

KOMPENDIE – GEN K3
Siri Holtmann och Gustav Magnusson

Om du finner detta kompendie hjälpsamt så swisha den summa som du tycker att just detta dokument är värt för dig.

Swishnummer: 0707471782

Skicka gärna en liten hälsning eller skriv kort och gott "K3 kompendium"

Hallihallå alla monsterdiggare och K3or. Under hösten när vi läste K3 skrev vi ihop några kompendier (4 stycken) som baseras mer eller mindre enbart på föreläsningarna vi haft. För oss har det räckt, men vi vill påpeka att vi inte kan garantera att allt är korrekt eller att det är heltäckande.

Vi väljer att hålla det öppet för alla och heller inte krav på att pröjsa då vi hoppas att det jobbet vi la ned kan gynna andra också.

Utöver föreläsningarna har vi använt Anton Olssons samt Stefan Albrektssons kompendium som stöd! Hett tips!

Har ni några tankar, frågor eller justeringar som ni tycks bör göras får ni hemskt gärna maila oss:

Siri.holtmann@gmail.com eller gusma171@student.liu.se

OBS! Ifall dessa kompendium når T3 en dag vill vi bara påpeka att ni går efter ett nytt curriculum och att vi därmed inte kan försäkra att innehållet stämmer överens med er kursplan.

LYCKA TILL!!!

// Siri och Gustav

GENERALIST

KOMPENDIE – GEN K3	0
Siri Holtmann och Gustav Magnusson	0
Om du finner detta kompendie hjälpsamt så swisha gärna 20 kr eller det som du tycker att just detta dokument är värt för dig.	0
Swishnummer: 0707471782	0
Skicka gärna en liten hälsning eller skriv kort och gott ”K2 kompendium”	0
CELLENS STRESSRESPONS	9
ÖVERSIKT	9
Olika typer av signalering	10
FOSFORYLERING	10
MAPK-KASKADER	11
MAPK-KASKADEN OCH DESS EFFEKTER	12
HUR FÅR MAN STOPP PÅ FOSFORYLERING?	13
SIGNALERING/GENREGLERING VIA NF-κB	13
REDOX signalering	13
OXIDATIV STRESS	14
VAD ORSAKAR OXIDATION?	15
HUR BILDAS FRIA RADIKALER?	15
REAKTIVITETEN HOS EN RADIKAL	16
AKTIVERING AV NADPH-OXIDAS	16
ANTIOXIDANTER	16
GLUTATION - REDOX REGLERARE	17
MAPK-SIGNALERING VID OXIDATIV STRESS	17
ADAPTATION - EXEMPEL PÅ GENER SOM UPPREGLERAS VID OXIDATIV STRESS	18
LIPIDSIGNALERING - LIPID RAFTS	18
KALCIUM - VIKTIG FÖR SIGNALERING	18
SIGNALERING VIA ”DÖDSRECEPTORN”	19
TYROSINKINASINHIBITORER (BRAF-HÄMMARE)	19
LABORATION CELLSKADA	19
BAKGRUND	19
SYREPARADOXEN	20
UPPGIFTEN	20
LIPIDPEROXIDERING UNDERSÖKNING	20
ANALYS AV ATP PRODUKTIONEN	21

STUDERA JÄRNINNEHÅLL I CELLKULTURER	22
PATOLOGI ALLMÄNT	22
CELLADAPTATION	22
HYPERTROFI	23
Cellhypertrofi vs vävnadshypertrofi	23
FYSIOLOGISKT	23
PATOLOGISKT	23
MEKANISMER	24
HYPERPLASI	24
Hyperplasi vs Neoplasi	24
FYSIOLOGISKT	24
PATOLOGISKT	25
PROSTATA – BG FALL	25
ATROFI	26
Cellatrofi vs. vävnadsatrofi	26
FYSIOLOGISK	26
PATOLOGISK	26
MEKANISMER	27
METAPLASI	27
FYSIOLOGISK	27
PATOLOGISK	27
MEKANISMER	27
DYSPLASI	28
MEKANISM	28
TENTAFRÅGOR	28
CELLSKADA	29
VAD KAN ORSAKA CELL- ELLER VÄVNADSSKADA?	29
CELLSKADOR - REVERSIBLA	29
HYDROPISK DEGENERATION	29
INTRACELLULÄRA ACKUMULATIONER	30
FÖRFETTNING - STEATOS	31
ALFA 1- ANTITRYPSINBRIST	31
IKTERUS (ej sjukdom utan symptom)	32
HEMOSIDROS	32
LYSOSOMAL	32
AMYLOIDOS	32
EXOGENA SUBSTANSER	33

CELLDÖD - IRREVERSIBELT	34
NEKROS	34
MORFOLOGI	35
KOAGULATIONSNEKROS	35
FÖRLOPP VID ISCHEMISK CELLDÖD - Nekros	35
FÖRVÄTSKNINGSNEKROS/KOLLIKATIV NEKROS	36
FETTVÄVNADSNEKROS	36
OSTIG NEKROS	36
FIBRINOID NEKROS	37
PATOLOGISK FÖRKALKNING	37
DYSTROFISK FÖRKALKNING	37
METASTATISK FÖRKALKNING	37
INFLAMMATION	38
VAD UTLÖSER INFLAMMATION?	38
AKUT INFLAMMATION	38
VASKULÄR REAKTION	39
CELLULÄR REAKTION	40
UTFALL	41
MORFOLOGISKA MANIFESTATIONER	41
SERÖS INFLAMMATION	41
FIBRINÖS INFLAMMATION	42
PURULENT INFLAMMATION	42
HEMORRHAGISK INFLAMMATION	43
KRONISK INFLAMMATION	43
MORFOLOGISKA MANIFESTATIONER	43
KRONISK "OSPECIFIK" INFLAMMATION	44
GRANULOMATÖS INFLAMMATION	44
KLINISKA EFFEKTER & KOMPLIKATIONER	45
CELL- OCH VÄVNADSREGENERATION	45
OLIKA TYPER AV VÄVNADER	46
LABILA	46
STABILA	46
PERMANENTA	46
REGENERATION	47
ÄRRBILDNING/REPARATION	47
FIBROS	47
CYTOKINER OCH TILLVÄXTFAKTORER	48

CYTOKINER	48
TILLVÄXTFAKTORER	48
GERONTOLOGI - LÄRAN OM DET NORMALA ÅLDRANDET	49
VAD BEROR ÅLDRANDET PÅ?	50
Ärftliga faktorer	50
CELLULÄR SENESENCE	50
TELOMERER	50
TELOMERLÄNGD	51
EPIGENETISKA FÖRÄNDRINGAR (GENE SILENCING)	51
ACKUMULERING AV SKADOR	52
CENTENARIANS	52
KALORIRESTRIKTIONER	52
AUTOFAGI	53
LYSOSOMEN	53
METODER FÖR ATT AKTIVERA AUTOFAGI	53
HORMES	54
PROTEOSTAS	54
DIAGNOSTISKA METODER	54
HUR STÄLLS EN DIAGNOS?	54
RELEVANTA BEGREPP	54
REFERENSINTERVALL	54
KVANTITATIVA VARIABLER	55
GRUPP OCH INDIVIDVARIATION	55
PARAMETRAR OCH LÖSNINGAR	55
BESLUTSGRÄNS	55
EXEMPEL BESLUTSGRÄNS	56
UTVÄRDERING AV ETT TEST	57
HUR BRA ÄR TESTET?	57
BASALA BEGREPP, MORFOLOGI OCH MEKANISMER	58
ISCHEMI	58
ORSAKER TILL ISCHEMI	58
VANLIGA ORSAKER	58
OVANLIGA ORSAKER	59
SMÄRTA VID ISCHEMI	59
DIAGNOSTIK AV ISCHEMI	59
VÄVNADSFÖRÄNDRINGAR EFTER ISCHEMI	59
HYPOXI	59

HYPOXEMI	60
SILENT HYPOXIA	60
INFARKT	60
RÖDA (HEMORRAGISKA) INFARKTER	60
EXEMPEL PÅ HEMORRAGISK INFARKT	60
VILKA ORGAN ÄR VANLIGAST DRABBADE?	60
BLEKA (ANEMISKA) INFARKTER	60
ANEMISK INFARKT – MAKROSKOPISK (NJURE)	61
ANEMISK INFARKT – MIKROSKOPISK OCH MIKROSKOPISKT (HJÄRTA)	61
HISTOLOGI	62
GANGRÄN/KALLBRAND	62
TORRT GANGRÄN	62
FUKTIGT GANGRÄN	62
SYSTEMISK REAKTION PÅ CELL- OCH VÄVNADSSKADA	63
SYMPTOM VID AKUT SKADA	63
SYMPTOM VID KRONISK SKADA	63
SYMPTOM VID MALIGN TUMÖR	64
PATOLOGISK HISTOLOGI	64
BEGREPP	65
DIAGNOSTISKA METODER	65
HISTOPATOLOGI → PAD	65
LABORATORIETEKNIK	65
FÄRGNING	66
CYTOLOGI	66
FÄRGNING	66
EXEMPEL	66
TUMÖRPATOLOGI	67
ATYPI	68
DYSPLASI	68
TUMÖRER	68
NEOPLASI	68
MALIGNA TUMÖRER	68
BENIGNA TUMÖRER	69
BENIGN vs. MALIGN	69
EPITELIALA TUMÖRER - MALIGNA	70
MESENKYMALA TUMÖRER - MALIGNA	70
NERVSYSTEMETS TUMÖRER - MALIGNA	70

TUMÖRPROGRESSION	70
DIFFERENTIERING	71
GRADERING	71
STADIUM	72
TUMÖRMARKÖRER	72
IMMUNHISTOKEMI, IHK	72
METASTASERING	73
SPRIDNINGSVÄGAR	73
IMPLANTATIONSMETASTASER/SEEDING	73
LYMFOGEN METASTASERING	73
HEMATOGEN METASTASERING	73
STEG FÖR STEG	73
INVASION AV EXTRACELLULÄR MATRIX	73
VASKULÄR SPRIDNING OCH HOMING	75
ANATOMISKA MEKANISKA HYPOTESER	75
SEED AND SOIL HYPOTESER	75
FALLET	76
CELLULÄR CARCINOGENES // TUMÖRUTVECKLING	76
ALLMÄNT OM CANCER	76
MODIFIERBARA RISKER	77
CELLENS URSPRUNG OCH SPECIFICITET	77
HALLMARKS OF A CANCER CELL	78
MUTATIONER	79
AFLATOXIN B1	80
TYPER AV MUTATIONER	80
Germ-line vs Somatic	80
Gain of function vs Loss of function	80
Small-scale mutations	80
Effekten av punktmutationer	81
Large-scale mutations	81
PASSENGER VS DRIVER	81
CANCER OCH ÄRFTLIGHET	82
CELLCYKELN OCH DESS CHECKPOINTS	82
KONTROLL AV CELLCYKELN	83
TUMOR SUPPRESSOR GENES	83
p53	83
GENETIK OCH P53 MUTATION	84

RETINOBLASTOMA (Rb) proteinet	84
ONKOGENER	84
cMyc	85
Andra onkogener	85
CARETAKER GENES	85
TET2	86
PHENOCOPIES	86
CELLULAR CARCINOGENESIS II	86
CANCERS UTVECKLINGSKONCEPT	86
KLONAL UTVECKLINGSMODELL	86
STAMCELLS MODELLEN	87
EPIGENETIK	87
CANCERLÄKEMEDEL – EN RESA FRAMÅT SAMT CARCINOGENES 2 (BEHANDLINGAR)	88
ÖVERLEVNAD I CANCER	88
ALLMÄN INFO	88
BEHANDLINGSSTRATEGIER	89
BEHANDLING VID AVGRÄNSADE TUMÖRER	89
RADIOTERAPI	89
KEMOTERAPI	89
ANTIMETABOLITER	90
ALKYLERARE OCH PLATINAFÖRENINGAR	90
MIKROTUBULIHÄMMARE	90
PROTEASOMHÄMMARE	91
KEMOTERAPI OCH RESISTENS	91
TOPOISOMERAS – HALLMARK SAMT KEMOTERAPI MOT DET	92
VAD GÖR TOPOISOMERASET?	92
TOPOISOMERAS INHIBITOR	92
EPIGENETISK TERAPI – HALLMARK OCH KEMOTERAPI EMOT DET	92
METYLERING I CANCER	93
DECITABIN	93
TELOMERER – HALLMARK OCH KEMOTERAPI MOT DET	94
TELOMERAS KOMPLEXET OCH Dess FUNKTION	94
TERT	94
TELOMERAS INHIBITOR	94
ANGIOGENES – HALLMARK OCH KEMOTERAPI EMOT DET	94
VARFÖR UPPSTÅR SWITCHEN?	95
ANGIOGENESENS EFFEKTER PÅ TUMÖRTILLVÄXTEN	95

ANGIOGENES INHIBITOR	95
IMMUNTERAPI	95
KRINGGÅ IMMUNFÖRSVARET	96
CHECKPOINT INHIBITOR THERAPY	96
CAR T-CELL THERAPY	96
HORMONTERAPI	97
AROMATASHÄMMARE	97
ANDRA EPIGENETISKA BEHANDLINGAR	98
PRECISERAD MEDICIN	98
KIRURGI	98
MÅLRIKTAD TERAPI (TARGETED THERAPY)	98
MUTATIONER I CANCERCELLER	99
EXEMPEL PÅ SJUKDOMAR DÄR MÅLSPECIFIKA LÄKEMEDEL (TARGET THERAPY) ANVÄNDS	99
CANCER KAKEXI	101
VANLIGA SYMTOM VID KAKEXI	101
PATOFSIOLOGI	102
BEHANDLING	104
PARAMALIGNA SYMTOM/SYNDROM	104
MEKANISMER	104
IMMUNOLOGISKA PARAMALIGNA SYMTOM	104
ENDOKRINA PARAMALIGNA SYMTOM	105
OSPECIFIKA	105
TUMÖRCELLENS METABOLISM	105
ÄRFTLIG KOLONCANCER	106
HETEROGENITET HOS TUMÖRER	106
MAKROSKOPISK UNDERSÖKNING	106
MIKROSKOPISK UNDERSÖKNING	107
FÖRÄNDRING NR. 1	107
FÖRÄNDRING NR. 2	107
FÖRÄNDRING NR. 3	107
CARCINOGENES AV KOLOREKTALA ADENOCARCINOM	107
LYNCH SYNDROM	108
CARCINOGENES VID LYNCH SYNDROM (VIA MIKROSATELLITINSTABILITETS-VÄGEN)	108
CARCINOGENES VIA CpG ISLAND HYPERMETHYLATION PATHWAY	109
CARCINOGENES VIA KROMOSOMAL INSTABILITETSVÄGEN	109
MUTATIONER I APC-GENEN	109
LABORATION p53 - GENOMETS VÄKTARE	109

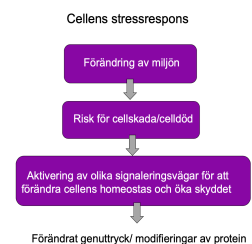
TEORETISK BAKGRUND	109
EXPERIMENTELL BAKGRUND	110
BEHANDLING	110
METODER	110
CELLCYKELANALYS	110
MUTATIONSANALYS	110
SANGERSEKVENSERING	111
COLONY FORMATION ASSAY	111
POTENTIELLA TENTAFRÅGOR	111
HOMEOSTAS PÅ CELL OCH VÄVNADSNIVÅ	113
GLUKOSHOMEOSTAS PÅ CELLNIVÅ	113
ETT HÄNDELSEFÖRLOPP	113
FEED FORWARD	113
HOMEOSTAS PÅ CELLNIVÅ - ATP	114
HUR UPPSTÅR 1:10-FÖRHÅLLET MELLAN ATP OCH ADP I MITOKONDRIEN?	114
ANPASSNING VID FYSISK TRÄNING	114
ANPASSNING VID SJUKDOM	115
CELLSVULLNAD	115
HOMEOSTAS PÅ VÄVNADSNIVÅ	116
TVÅ OLIKA TYPER AV HYPERTROFI	116
Fysiologisk hypertrofi (reversibel)	116
Patologisk hypertrofi (irreversibel)	116
FYSIOLOGISK HYPERTROFI - SIGNALVÄG	117
PATOLOGISK HYPERTROFI - SIGNALVÄG	117
HYPOXIA INDUCED FACTOR - SIGNALVÄG	117

CELLENS STRESSRESPONS

ÖVERSIKT

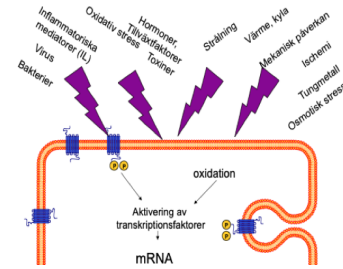
Stress i en cell kan likställas med en obalans i dess homeostas, vilket leder till ett påverkat genuttryck.

När en cell utsätts för stress förändras dess intracellulära miljö (obalans i homeostas), vilket ökar risken för cellskada eller celldöd. För att skydda sig mot förändringarna aktiverar cellen olika signalvägar, vilka kan förändra cellens homeostas (vill alltid uppnå balans) samt öka dess skydd. Detta på grund av att signalvägarna förändrar genuttrycket i cellen samt modifierar dess redan befintliga proteiner.



Det finns en mängd olika faktorer som kan orsaka stress i en cell. Bland annat bakterier/virus, värme/kyla, strålning eller tungmetaller.

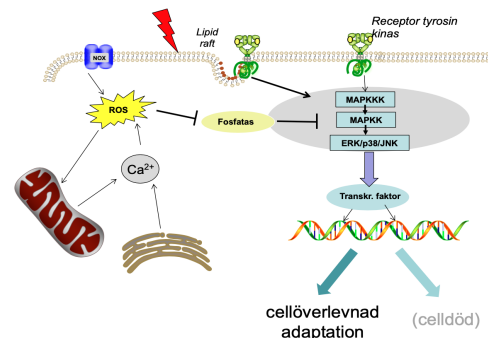
Vid en stressig situation aktiveras receptorer på cellytan, vilka via olika signalvägar aktiverar transkriptionsfaktorer. Dessa skapar i sin tur en ökad transkription av mRNA. Parallellt med denna signalering kommer det i cellen även finnas en endogen **oxidativ stress**, vilket är själva stressmomentet i cellen.



Olika typer av signalering

Stress-signalering innebär i allmänhet att de "vanliga" signaleringssvägarna används men förstärks genom att de tex pågår under en längre tid och/eller med högre koncentration.

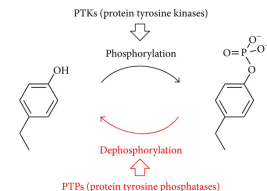
- Fosforylering
- Oxidation - oxidativ stress
- Ca^{2+} -signalering
- Lipidsignalering
- Förändrat genuttryck - adaptation
- TNF-alfa-signalering



FOSFORYLERING

En fosfatgrupp består av en fosforatom och fyra stycken syre - PO_4

Proteinkinaser sköter fosforyleringssignaleringen, där ett kinas är ett enzym som flyttar på en fosfatgrupp från en molekyl till en annan. Ett proteinkinas har möjlighet att addera en fosfatgrupp till de aminosyror med hydroxylgrupp, vilket finns på **tre stycken** olika aminosyror genom en hydrolysreaktion. På detta sätt kan olika proteiner på ett enkelt sätt modifieras, vilket skapar kaskader inuti cytosolen. Bra kinaser att känna till är:



- **Mitogen activated protein kinase (MAPK)** - Ett kinas som inducerar mitos
 - ERK
- **Stress activated protein kinase (SAPK)** - Dessa kinaser är stressaktiverade, men kan även gå under kategorin MAPK.
 - JNK
 - p38
- **PI3K** - Dessa kinaser främjar celltillväxt, proliferation, differentiering samt överlevnad.

MAPK-KASKADER

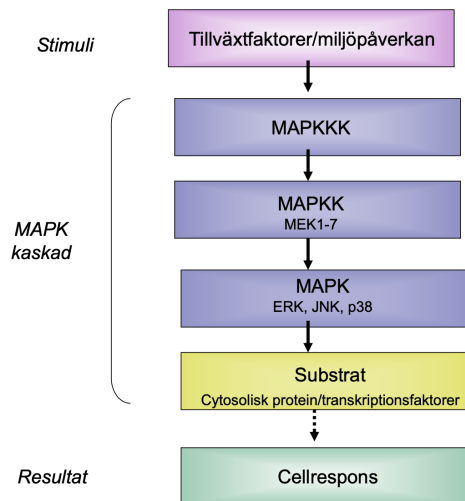
MAPK-kaskader sker ständigt i cellens cytosol, och sätts igång vid signal från membranreceptorer. Vid aktiverad kaskad studsar en fosfatgrupp mellan olika proteiner → massvis med reaktioner.

1. Aktivering av membranreceptor

Kaskaden initieras med att en tillväxtfaktor eller miljöpåverkan registreras av en membranreceptor. Detta leder till en aktivering och dimerisering av receptorn, vilket är en förutsättning för att starta MAPK-kaskaden. I kaskaden aktiverar först så kallade MAPK-kinas-kinaser, **MAPKKK**.

2. Membranreceptorn aktiverar MAPKKK

Aktiveringen kommer starta en kaskadreaktion som fortskrider genom ständiga fosforyleringar. MAPKKK kommer sedan fosforylera och aktivera **MAPKK**.



Exempel på kinaser

MAPKKK	MAPKK
RAF	MEK 1-7
RAS	

3. MAPKK aktiverar MAPK.

MAPKK aktiverar i sin tur **MAPK**, vilket är någon av de tre viktiga kinaserna; ERK, JNK eller p38.

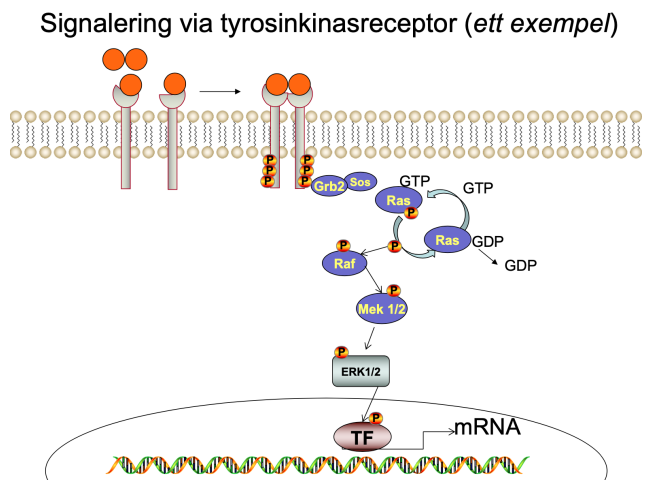
4. MAPK har aktiverats och kan nu verka på substrat

Kaskaderna konvergerar till sist till någon av tre VIKTIGA kinaser kallade ERK, JNK eller p38, vilka har i uppgift att aktivera lämplig transkriptionsfaktor. TF letar sig sedan in i kärnan och påverkar genuttrycket.

OBS! Divergensen i dessa kaskader är enorm, vilket är en försäkras till att alla signaler på något sätt når fram.

Tyrosinkinasreceptorer är en viktig receptor som aktiverar flera centrala signaleringskaskader. Många tillväxtfaktorer använder tyrosinkinasreceptorer, som i sin tur genererar ett intracellulärt svar. Dessa receptorer är transmembranproteiner, vilket innebär att de har ytor både intra- samt extracellulärt. Vid aktivering dimeriseras receptorerna, vilket möjliggör en mängd fosforyleringar intracellulärt → bildar en reaktionsplattform för cytosoliska proteiner.

RAS är ett av de protein som kan binda in och aktiveras via reaktionsplattformen. Efter aktivering binder RAS in GTP, samt får det att övergå till GDP. En fosfatgrupp frigörs, vilket får en kaskad av fosforyleringar att sätta igång, likt den nedan nämnda:



RAS → RAF → MEK 1/2 → ERK 1 eller 2 (MAPK)

Tyrosinkinasreceptorer aktiverar även **andra centrala signaleringskaskader**:

- **RAS-MAPK**
Är en viktig signalväg för proliferation.
- **PI3K-AKT**
Viktig signalväg för överlevnad. Läs om Warburgeffekten (Cancerkakexi, samt kalorirestriktion s. 52)
- **PLC-PKC**
Viktig signalväg för differentiering
- **JAK-STAT**
Viktig signalväg för metabolism

MAPK-KASKADEN OCH DESS EFFEKTER

Allt handlar om att stimulera cellen och därmed få den att jobba mer. Genom ökad aktivering av MAPK-kaskaden så kommer den naturliga bromsen som cellen har att minska. De huvudsakliga följderna av MAPK-kaskaden är:

- **Stimulering av cellcykeln**
MAPK kommer leda till ett ökat tryck på gasen i celldelningen. **ERK** kommer stimulera transkriptionen av **cyklin D**. När ERK binder in till cyklin D, så kan cyklin D fosforylera **Rb** → nedbrytning. **E2F**, som tidigare var bundet till Rb, aktiveras och agerar som TF för att låta cellcykeln att fortlöpa från G1 till S-fas.
- **Aktivering av transkriptionsfaktorer**
Fosforylering av exempelvis Myc (proto-onkogen)

HUR FÅR MAN STOPP PÅ FOSFORYLERING?

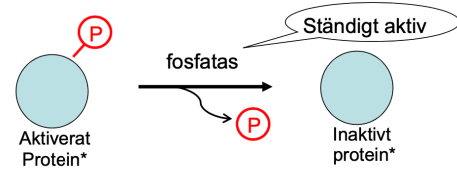
Precis som i alla processer så är det viktigt att INTE trampa för hårt på gasen samt att signalen måste kunna avbrytas.

Fosfataser är ständigt aktiva. Deras uppgift är i motsats till kinaser att ta bort fosfatgrupper. Vid kontakt med en fosfatgrupp tar de bort den direkt → inaktivt protein.

Proteasomen kan bryta ned fosforylerade proteiner.

Inhibering av kinaser med andra molekyler.

•Fosfataser tar bort fosfatgrupper



OBS! Det finns exempel på proteiner som är inaktiva i fosforylerad form, och aktiva i o-fosforylerad form.

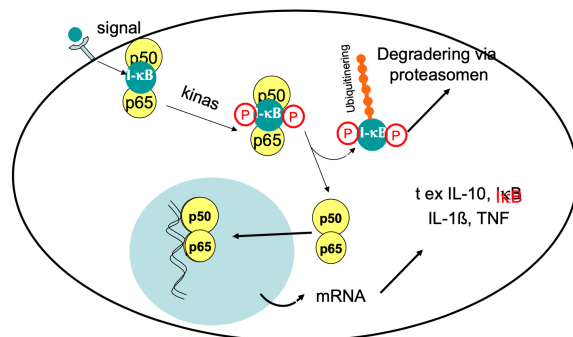
→ Vid oxidativ stress sker ofta en inhibering av fosfataser. Detta leder till minskad defosforylering och förstärkning av signaleringsvägar. Cellens DNA-uttryck förändras och anpassas för att klara av den oxidativa stressen bättre.

SIGNALERING/GENREGLERING VIA NF-κB

NF-κB = nuclear factor kappa-B

Denna signaleringsväg är mer **stressinducerad** och aktiveras bland annat av bakterier, virus, fria radikaler m.fl. NF-κB är ett proteinkomplex bestående av p50 och p65, men i homeostas så är detta komplex inaktivt och bundet till I-κB. Vid stressignal fosforyleras I-κB (av ett kinas) → nedbrytning. NF-κB blir på så vis aktivt, går in i kärnan och agerar TF. I-κB ubiquitineras och degraderas.

Aktiveras vid olika typer av stress, t ex bakterier, virus, cytokiner, fria radikaler, tungmetaller, UV-strålning



Det mRNA som transkriberas är ofta proinflammatoriska interleukiner samt I-κB, vilket är viktigt för att signalerna inte ska bli för starka. Denna inhibering är trögare och gör att signalen fortgår längre än MAPK-kaskaden, på grund av att I-κB måste syntetiseras.

REDOX signalering

- **Redoxreaktion** är en förflyttning av elektroner. Någonting kommer att reduceras och någonting annat oxideras.
- **Reduktion:** om ett ämne får en elektron så reduceras den.
- **Oxidation:** om ett ämne avlämnar en elektron så oxideras den.

I en cell i vila finns det väldigt lite fritt syre som stör processerna. Eftersom syre är giftigt för oss så hanteras det med stor försiktighet och över 90 % av syret som vi tar in i cellen hamnar i mitokondrierna och används i den oxidativa fosforyleringen. Cellen i övrigt verkar därför huvudsakligen anaerobt. Syre är någonting som är väldigt exklusivt. *Det syre som hamnar i cytosolen hamnar där till följd av att mitokondrien läcker ut syre.*

Vid stress (eller väldigt hård träning) produceras ökade mängder reaktiva syrederiverade molekyler som har viktig funktion för signaltransduktion i cellen.

OXIDATIV STRESS

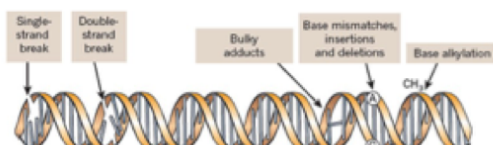
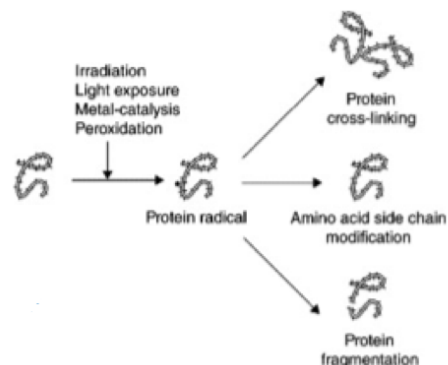
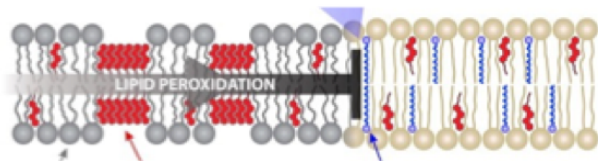
Är en störning i prooxidant-antioxidantbalansen. Mer prooxidantet bildas, vilket leder till potentiell skada. Oxidativ stress uppstår då produktionen av fria radikaler (pro-oxidanter) överskrider cellens förmåga att göra sig av med dem.

En fråga om dos

Mängden oxidativ stress är avgörande för hur cellen reagerar på det. Om vi har en väldigt låg oxidation, så kan det bidra till signalering och dessutom så ökar proliferationen mer i celler som utsätts för låg dos av oxidativ stress jämfört med kontroller. Om vi istället får lite mer oxidativ stress så kan det finnas risk för skada istället. Ännu mer oxidativ stress kan leda till irreversibla skador. Här sker ett adaptivt försvar där celler börjar transkribera gener som skall skydda den mot de stressorer som aktiverat adaptationen.

Exempel på skador är:

- **Lipidperoxidering i membran** → skador i både plasma- och organellmembran. Detta leder till att felaktiga molekyler tar sig in i cellen.
 - I den osaturerade lipiden (dvs innehåller en dubbelbindning) finns det väteatomer som är mer lättillgängliga som vid kontakt med en hydroxylradikal bryter loss och bildar vatten. Fettsyran blir en reaktiv lipid med en radikal vilket leder i sin tur till lipidperoxidering.
- **Oxidativ modifiering av proteiner** → proteiners konformationsstruktur förändras, vilket kan påverka deras "aktiva yta" (funktion).
- **Skador på DNA** → Fria radikaler kan även åstadkomma direkta skador på DNA-strukturen.

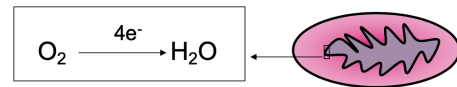


VAD ORSAKAR OXIDATION?

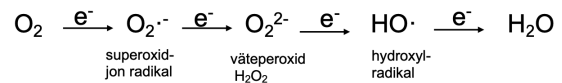
Prooxidanter och **antioxidanter**. Prooxidanter är ämnen som inducerar oxidativ stress genom generera ROS (reactive oxygen species) eller förbruka antioxidant. Antioxidanter är istället ämnen som minskar oxidativ stress.

De radikaler som är intressanta rent medicinskt är de som derivat av syre. En **fri radikal** är en molekyl med oparade elektroner. När en elektron inte är parad så blir den molekylen högst reaktiv och tar snabbt upp en elektron från ett annat ämne. Fria radikaler orsakar även kedjereaktioner (tar elektron från annat ämne → ny radikal) samt skadar makromolekyler.

Syrgas (O_2) kan genom fyra reduceringar övergå till vatten:



1. Vid upptag av en elektron bildas den vanligaste radikalen i cellen, **superoxidjon radikal**.
2. Vid ytterligare upptag av en elektron bildas **väteperoxid** (H_2O_2). Väteperoxid är inte en radikal men väldigt reaktiv för det.
3. Vid den tredje reduktionen bildas hydroxylradikal, vilket är den mest reaktiva radikalen av dem alla (reagerar inom någon nanosekund).
4. Vid den fjärde och sista reduktionen bildas till sist vatten.



Detta gör reaktionen till väldigt energirik och utnyttjas i mitokondrien för att syntetisera ATP.

HUR BILDAS FRIA RADIKALER?

Radikaler kan bildas både endogent och exogent

Endogent

- **Immunförsvaret** kan producera fria radikaler för att ta död på inkräktare. Detta kan göras av kväveoxid-syntetaser (NOS), som bildar kvävemoxid, samt av NADPH-oxidaser som kan bilda olika typer av ROS i makrofager och neutrofiler.
- Väteperoxid (H_2O_2) bildas från **peroxidaser**.
- **Läckage från mitokondrien**. En litet men konstant läckage av superoxidjon radikaler släpps ut från elektrontransportkedjan i mitokondrien ut till cytosolen.

Exogent

- Joniserande strålning
- UV-strålning
- Toxiner
- Luftföroreningar

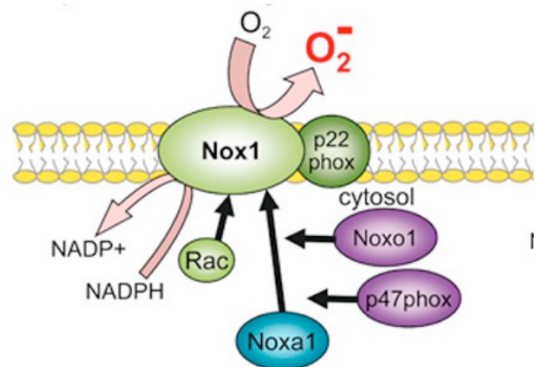
REAKTIVITETEN HOS EN RADIKAL

- Ju mindre molekyl (få elektroner) desto mer reaktiv
- Ringstrukturer stabiliserar molekylen → sänker reaktiviteten (fettlösliga vitaminer exempelvis består av en bensenring)
- Omgivande miljö (vissa är mindre reaktiva i vattenlösning jämför med fettlösning)

AKTIVERING AV NADPH-OXIDAS

Förutom immunförsvarets celler innehåller troligen alla celler NADPH-oxidas (NOX), vilket kan producera fria syreradikaler för både intra- och extracellulär signalering. På detta sätt kan cellen själv skapa en konstant låg oxidativ stress.

Syreradikalerna bildas genom att syre kan reagera med transmembranproteinet, **NOX1**, som omvandlas till en syreradikal genom flera proteiner samt en ombildning av NADPH → NADP⁺ där elektronen som lämnas av gör syret till en superoxid radikal.



ANTIOXIDANTER

Antioxidanter är, precis som namnet beskriver, skyddande mot oxidation och fria radikaler. De är viktiga molekyler som skyddar mot oxidativ stress genom att hejda oxidativa reaktioner och återställa funktionen hos proteiner som oxiderats.

Det finns olika typer av antioxidant:

Kroppsegna - Enzymatiskt försvar

- SOD, kan para ihop fria radikaler och på så vis neutralisera dem.
- Glutation
- Peroxidas
- Tioredoxin

Försvar av små molekyler (antioxidanter)

Fettlöslig

- E-vitamin (A-tokoferol)
- β -karoten (a-vitamin)

Vattenlösliga

- Acetylcystein (NAC)
- C-vitamin (askorbinsyra)

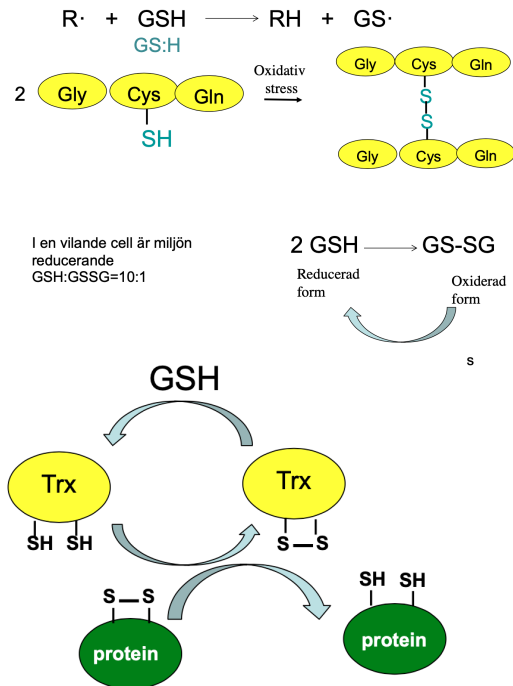
Fettlösliga antioxidant stabiliserar genom dess bensenring.

GLUTATION - REDOX REGLERARE

Glutation består av tre stycken aminosyror, där den mellersta aminosyran cystein är av största betydelse. Detta beror på att cystein har en sulfidgrupp (SH), vilket möjliggör för denna molekyl att donera en hydridjon till en fri radikal (oskadliggöra). Glutation är en mycket vanlig molekyl i våra celler, och vid ökad oxidativ stress kan två glutationsradikaler (donerat en hydridjon) slå ihop sig och bilda GS-SG (se bild).

Den oxiderade formen kan sedan med hjälp av glutationreduktas återgå till dess reducerade form. Glutation är VIKTIGT för att hålla cellens miljö reducerad, och är på så vis kroppens viktigaste redoxreglerare.

Om ett protein oxideras har cellen flera olika proteiner som kan hjälpa till. Tioredoxin (Trx) hjälper andra proteiner att hållas reducerade, genom att själv oxideras. Detta protein har nämligen, precis som glutation, möjligheten att dimerisera och bilda disulfidbryggor. Tioredoxin kan sedan reduceras tillbaka med hjälp av just glutation, vilket finns i höga koncentrationer i cellen.

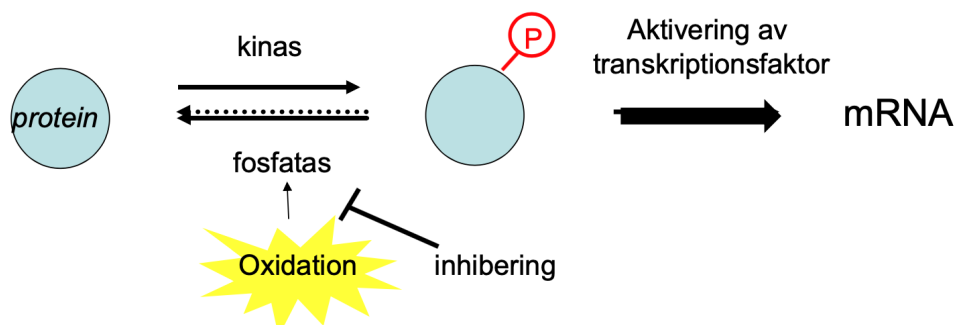


OBS! Alla proteiner innehållande cystein kan lämna ifrån sig en hydridjon vid oxidativ stress, vilket får direkt påverkan på dess proteinstruktur.

MAPK-SIGNALERING VID OXIDATIV STRESS

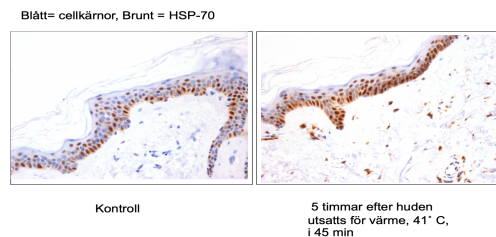
Vid oxidativ stress börjar proteiner att oxideras, vilket leder till att dessa proteiner både ändrar konformation samt funktion. Vid första tanken tycker man att detta låter negativt, men vid förståelse för att den **oxidativa stressen inhiberar fosfataser** inser man att den oxidativa stressen faktiskt påskyndar signaleringen.

En cells intracellulära signalering, kan vara en MAPK-kaskad, sköts av kinaser och motverkas av fosfataser. Om en del av fosfataserna inhiberas av en låg oxidativ stress kommer signalen motverkas mindre, vilket leder till en starkare signal och ett ökat genuttryck.



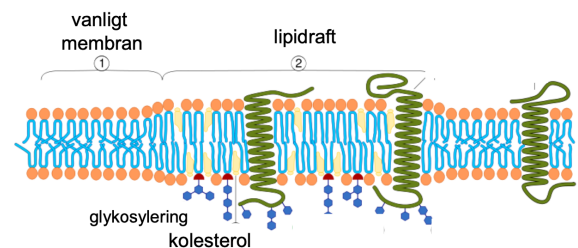
ADAPTATION - EXEMPEL PÅ GENER SOM UPPREGLERAS VID OXIDATIV STRESS

- SOD2 (superoxid-dismutas), vilket är ett enzym som snabbar på bildandet av väteperoxid från superoxidjon radikaler i mitokondrien.
- Tioredoxin, hjälper andra proteiner att hållas reducerade
- Glutation-syntetas, vilket är ett enzym som ökar syntesen av GSH → ökar mängden glutation i cellen.
- p53, är ett protein som vakar över cellcykeln och styr reparationen av DNA/inducerar apoptos. Vid någon form av skada förhindrar p53 cellen att fortsätta cellcykeln till dess att skadan är reparerad.
- Heat-shockproteiner (HSP), är stressinducerade proteiner som med hjälp av ATP fungerar som chaperoner. Det innebär att de hjälper proteiner med felaktig konformation att veckas rätt → cellen behöver inte påbörja apoptos. Bilden nedan visar HSP-70 aktiviteten i hudceller efter att ha värmechockats under några minuter.



LIPID SIGNALERING - LIPID RAFTS

Är ansamlingar av mättade lipider (sfingolipider, kolesterol mm). Detta är den viktigaste signaleringsvägen vi har i cellen. Dock kan vi inte så mycket om den ä. Fördelen med denna typ av signalering är att lipider kan diffundera fritt genom membranet, förändra membranets kurvatur samt förändra aktivitet av membranprotein.



I Lipidrafts kan vissa membranproteiner ackumulera. De fungerar som plattformar för signalering.

Lipid rafts är betydande för att receptorerna till fosforyleringssignaleringen ska kunna dimeriseras.

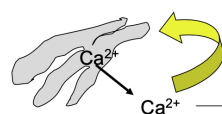
KALCIUM - VIKTIG FÖR SIGNALERING

Kalciumjoner fungerar i stor utsträckning som second messengers i flera signalvägar

Vid normala förhållanden

Kalciumjoner (Ca^{2+}) finns i låg koncentration i cytosolen, men i hög koncentration i ER. Vid en signal förs Ca^{2+} ut i cytosolen, vilket möjliggör inbindning till **calmoduliner**. Calmoduliner är molekyler med hög affinitet

• Normalt



• Oxidativ stress

Calmoduliner → Reglering av t ex:
Proteinkinas
NOS
Cytoskelettet

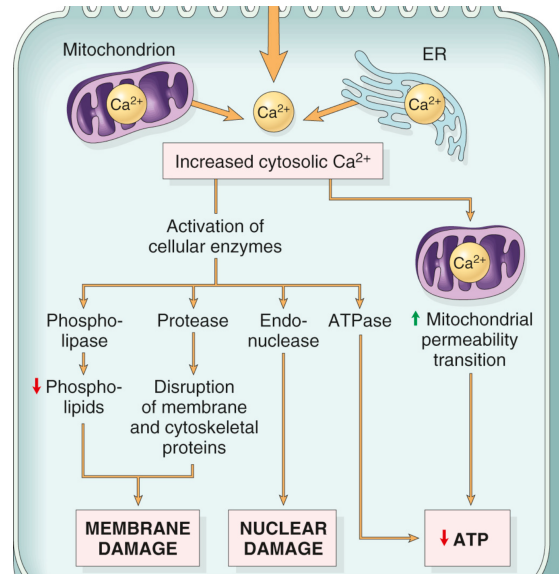
för kalcium, och genom dessa kan man reglera **proteinkinaser**, **NOS** och **cytoskelett** som själva inte kan få en kalciumsignal.

Vid oxidativ stress

Ca^{2+} -kanalerna som pumpar tillbaka kalcium till ER är känsliga för oxidativ stress. Detta medför att Ca^{2+} förblir kvar längre i cytosolen vid oxidativ stress, vilket gör att även molekyler med låg affinitet för Ca^{2+} kan binda in det. Dessa molekyler är i stor utsträckning skadliga, som bland annat endonukleaser som kan bryta ned DNA eller calpiner (proteas). För mycket kalcium i cytosolen är därför direkt skadligt för cellen.

SIGNALERING VIA "DÖDSRECEPTORN"

Det vi i K1 lärde oss hette "dödsreceptor" är i själva verket en receptor som kan signalera BÅDE celldöd och överlevnad. Ett exempel på en sådan receptor är **TNF-receptorn**. Detta beror på vad som binder in till receptorn på den cytosoliska sidan.



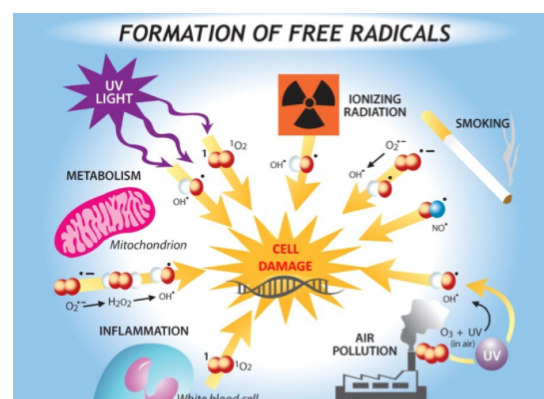
TYROSINKINASINHIBITORER (BRAF-HÄMMARE)

Vid malignt melanom (hudcancer) är den vanligaste orsaken mutation i BRAF, vilket gör den konstant aktiv. Detta gör att denna MAPKKK konstant pumpar signaler nedåt i signalvägen om att cellen ska fortsätta dela sig. Genom att hämma BRAF kan man få kontroll över hur ofta cellen delar sig, vilket är gynnsamt vid behandling av cancersorten.

LABORATION CELLSKADA

BAKGRUND

Med risk för repetition av ovanstående så kan cellskador uppkomma genom exponering för kemikalier, heta, kyla, ischemi eller strålning exempelvis. Utöver vilken typ av **stimuli** som orsakar skadan är även **duration** och **koncentrationen** viktiga komponenter. Hur känslig en cell är för cellskada som orsakas av oxidativ stress kan påverkas av olika faktorer. Oxidativ stress uppstår då produktionen av fria radikaler övergå cellens förmåga att göra sig av med dem.



- Definitionen av en fri radikal:
 - En atom eller molekyl som har ojämnt antal elektroner i ett elektronskal
 - De är reaktiva, kortlivande och orsakar kedjereaktioner → skada sprids
- Fria radikaler utnyttjas vid inflammation för att invadera mikroorganismer (endogent ursprung)

- Fria radikaler kan ge upphov till en mängd olika sjukdomar och skador i kroppen, ett urval:
 - Leder - Reumatism
 - Lungorna - astma
 - Hjärnan - alzheimers, parkinson, ADHD, autism
 - Blodet - ateroskleros

Oxidativ stress orsakas av reaktiva syrederivat (syreradikaler och väteperoxid) och leder till oxidation av intracellulära komponenter. Men även metalljoner kan ge upphov till fria radikaler genom den så kallade

Fenton Reaktionen:

- **Hydroxyl-radikal bildas då väteperoxid reagerar med t.ex reducerat järn**



Antioxidanter skyddar mot oxidativ stress genom att hejda dessa reaktioner och återställa funktionen hos proteiner som oxiderats. Ytterligare ett sätt att minska effekterna av reaktiva syrederivat är att hålla koncentrationen av fria metalljoner såsom järn och koppar så lågt som möjligt. Mer om detta under *Antioxidanter*

SYREPARADOXEN

Syre är nödvändigt för alla aeroba organismer på jorden, men syre är också giftigt. Syre är en energirik molekyl och därför blir förbränning med hjälp av syre mycket mer effektiv än utan syre. En molekyl glukos kan ge 32 ATP-molekyler medan samma glukosmolekyler bara ger 2 ATP utan syre- Syrgasmolekylen kan ta upp elektroner från radikaler och omvandlas då till en fri radikal.

UPPGIFTEN

Uppgiften med labben är att undersöka effekten av väteperoxid i cellkulturer och studera effekten av järn samt antioxidanter.

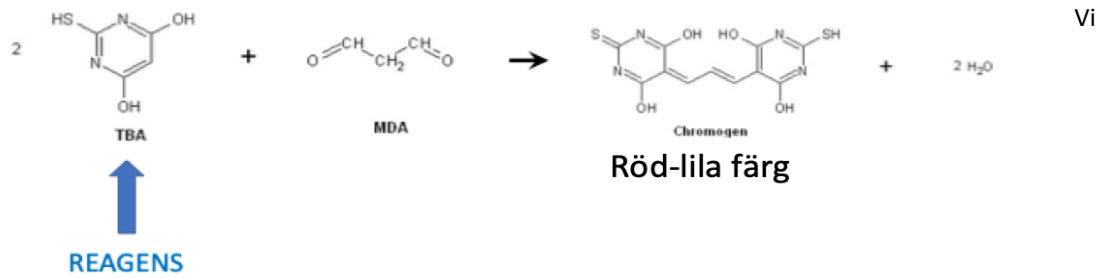
Modulerna vi fick använda oss av var:

- N-acetylcystein (NAC, vattenlös antioxidant) - Syntetiserar glutation
- Alfa-tokoferol (fettlös antioxidant, E-vitamin) - Bensenring binds in i cellmembranet
- Järnjoner
- Desferrioxamin (desferal;järnkelerare) - ringstruktur med dubbelbundet syre som binder in fritt järn

Vi fick 13 prover med olika kombinationer av ovanstående. Vi fick inte reda på vilka som innehöll vilka modifierare utan det skulle vi ta reda på genom ett antal tester

LIPIDPEROXIDERING UNDERSÖKNING

Lipidperoxidering leder till att kolskelettet i fettsyrorna oxiderar och går av. Oxidering av fosfolipider i cellens membran genererar aldehyder, som till exempel malondialdehyd (MDA) och 4-hydroxyalkenaler (HAE). LPO-586 kitet mäter förekomsten av dessa aldehyder och detta värde kan användas som en indikation på lipidperoxidering och därmed graden av oxidativ skada i cellerna.



nyttjar en reagens (N-methyl-2-phenylindole) som reagerar med MDA och HAE (aldehyderna som cellerna bildar vid oxidativ stress). Tillsammans kommer de bilda ett stabilt kromoforkomplex som kan mätas spektrofotometriskt vid våglängd 586nm. Med hjälp av en standardkurva som vi själva konstruerar med kända koncentrationer kan vi därefter jämföra proverna med detta för att få ut koncentrationen.

- Syftet med spektrofotometri är att mäta koncentrationen av ett ämne i en lösning. Det sker genom att vi bestrålar lösningen med ultraviolett eller visuellt ljus (beroende på ämnet vi undersöker och dess egenskaper) och får ut ett "absorbansvärde". Desto mer ljus som absorberas av lösningen desto högre koncentration finns det av ämnet.

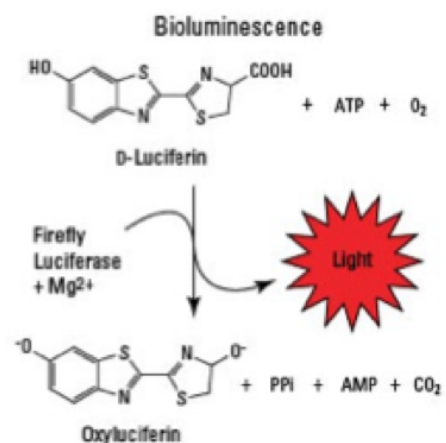
Utifrån denna undersökning kan vi urskilja vilken antioxidant som är fettlös, Alfa-tokoferol (E-vitamin), då den har möjlighet att binda in till membranet och stabilisera fria radikaler.

ANALYS AV ATP PRODUKTIONEN

Ett annat sätt att undersöka skador på celler är att analysera ATP produktionen. Vid cellskada, (t.ex. oxidation av lipider eller protein i mitokondriemembranet) påverkas mitokondriens förmåga att behålla protongradienten och därmed påverkas också cellernas ATP nivå. Detta medför att ju mindre ATP som bildas, desto mer skadad är cellen.

ATP nivån analyseras genom att studera reaktionen då D-luciferin omvandlas till oxyluciferin, en luciferas katalyserad reaktion. Vid denna reaktion omvandlas ATP till AMP och överskottsenergin avges som ljus ($\lambda = 562 \text{ nm}$). Antalet emitterade fotoner är direkt proportionellt till mängden ATP molekyler som använts.

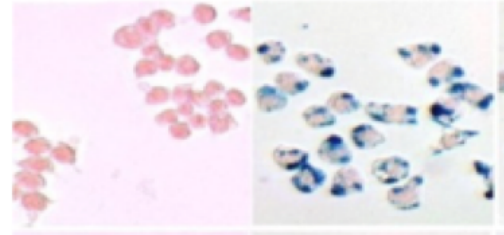
För att räkna ut ATP koncentrationerna använder vi oss av en standardkurva som vi konstruerade mha redan kända ATP-koncentrationer.



STUDERA JÄRNINNEHÅLL I CELLKULTURER

Prussian blue är ett färgpigment som lätt binder till metalljoner. Blåfärgade celler indikerar att det finns fria metalljoner i cellen. Vi tittade i mikroskop på celler som hade blivit behandlade med följande preparat;

- X + Fe
- Y + Fe
- Z + Fe
- Fe
- Kontroll



Få detta sättet kunde vi undersöka huruvida antioxidanterna hjälpte till att binda upp fritt järn eller ej. Modifierare Y hade dylik infärgning som kontrollen, vilket leder oss till att tro att modifierare Y är **desferal**, antioxidanten med stabilisera järn.

PATOLOGI ALLMÄNT

Patologi är studien om sjukdomar, varav det finns två viktiga tillhörande termer;

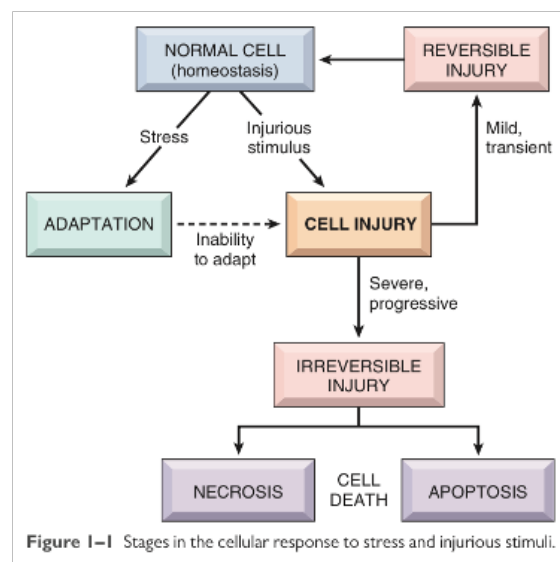
- **Etiologi** – läran om orsaken samt ursprunget av sjukdomen, vilket alltså inkluderar både genetik samt miljöfaktorer. **VARFÖR** en sjukdom uppkommer.
- **Patogenes** – läran om uppkomst samt utveckling av sjukdomen. Detta innefattar vilka mekanismer, så som virus eller hormonrubbingar, som initieras sjukdomsutvecklingen. Med andra ord **HUR** en sjukdom utvecklas.

CELLADAPTATION

Celler är normalt i ett steady state som kallas homeostas, vilket är ett stabilt och konstant tillstånd gentemot omgivningen.

Om cellen påverkas av fysiologisk eller patologisk stress kan de genomgå så kallad adaptation – vilket anpassar cellen efter de nya miljöfaktorerna och bibehåller därmed dess funktion. Adaptionen i fall som dessa är reversibel och kan ge uttryck i följande former.

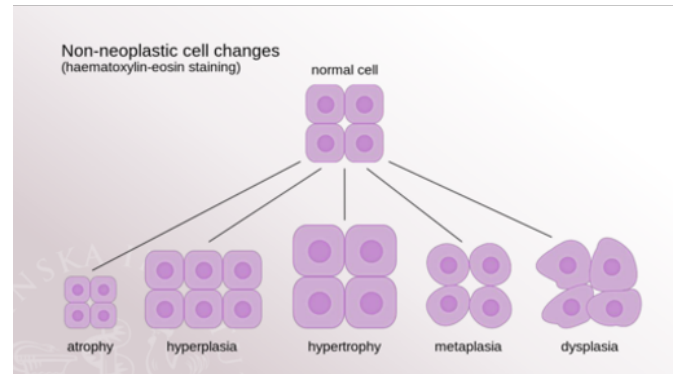
- **Atrofi**: Cellen minskar i storlek.
- **Hypertrofi**: Cellen ökar i storlek.
- **Hyperplasi**: Antalet celler ökar.
- **Metaplasi**: Cellen förändrar sin fenotyp genom förändrat genuttryck.
- **Dysplasi**: Cellen förändrar sitt utseende till följd av mutationer.



Under *Cellens stressrespons* kan man läsa hur dessa adaptationer initieras genom olika signalvägar.

Om en adaptations kapaciteten överskrider eller om stressen är för stor kommer det ske en cellskada. Inom vissa gränser är även detta reversibelt. Om inte reversibelt kommer detta resultera i celldöd. Celldöd kan bero på:

- Ischemi (blodbrist)
- Infektion
- Toxiska ämnen
- Dysplasi (förstadium till neoplas)



Celldöd kan även vara en normal och nödvändig process, vilket antingen sker genom nekros eller apoptos. Om skadan däremot ej är så illa att celldöd induceras kommer den, när stressen försvinner, att återgå till det normala.

HYPERTROFI

Hypertrofi är en cellförstoring som resulterar i en organförstoring som resultat av en omstrukturering av celler på grund av ökade funktionella behov i slutdifferentierande celler som ej delar sig.

- Med andra ord kan man säga att fullständig hypertrofi inte innebär några nya celler, utan att de redan existerande enbart **ÖKAR** i storlek.
- Sker i celler som har en begränsad kapacitet att dela sig.
 - Ibland tillsammans med hyperplasi.



Cellhypertrofi vs vävnadshypertrofi

Cellhypertrofi innebär **enbart** en ökning av cellstorlek. Vävnadshypertrofi innebär både en cellökning och cellstorleksökning! **OBS! Viktigt att observera skillnaderna mellan dessa!**

FYSIOLOGISKT

- Uppstår till följd av ett ökat funktionellt behov eller genom stimulering från hormoner och tillväxtfaktorer hos terminalt differentierade celler (kan ej genomgå mitos).
- **[Kliniskt]** Vid träning får vi ett ökat behov av funktionell aktivitet i vår skelettmuskulatur. Musklerna utsätts för mekanisk påfrestning och växer därefter genom hypertrofi.
- **[Kliniskt]** Stor fysiologisk förstoring av uterus under graviditet pga östrogen stimulerar den släta muskulaturen både till hypertrofi och till hyperplasi

PATOLOGISKT

- Uppkommer till följd av bakomliggande patologisk process.

- **[Kliniskt]** Hypertrofi av hjärtmuskeln till följd av kronisk hemodynamisk påfrestning (påfrestan på mekanismerna bakom blodcirkulationen), vilket leder till kraftig förtjockning av kammарväggen.

MEKANISMER

Hypertrofi påverkas av olika faktorer → mer proteiner, exempelvis tillväxtfaktor och strukturproteiner görs → ökar cellens storlek. Omstruktureringen av cellerna innebär en nedbrytning av "onödiga" proteiner som bryts ned genom ubiquitin-proteasomvägen, en ökad translation och proteinsyntes samt ökad transkription av gener för transkriptionsfaktorer. Även minskad apoptos har observerats

HYPERPLASI

Hyperplasi är en cellökning som sker genom en inducering av vilande celler (G0). Detta gör att cellcykeln fortskrider (G1). Cellökningen i sin tur leder till en organförstoring.



- Sker i celler som har förmåga att dela sig.
- Sker vid ökande funktionella behov
- Kan vara både patologiskt och fysiologiskt.
 - I båda fallen sker proliferationen som svar på tillväxtfaktorer.
- Sker ofta i samband med hypertrofi

Hyperplasi är induceras av trofiska hormoner, endogena som exogena, samt tillväxtfaktorer och är därmed alltid reversibelt. Detta innebär att hyperplasi alltid är benämnt eftersom det är beroende av en viss stimulering och är därmed INTE cancer.

Hyperplasi vs Neoplasi

Hyperplasi är ALLTID beroende av trofiska hormoner, endogena som exogena, och kommer därmed att återgå till det normala så fort stimulering en försvinner. Neoplasi å andra sidan är ALLTID irreversibelt, på grund av att ALDRIG är beroende av stimuli.

FYSIOLOGISKT

Finns två typer av fysiologisk hyperplasi

Hormonell

- **[kliniskt]** Glandulära epitel i kvinno-brösten som under puberteten samt graviditet växer

Kompensation

- När en vävnad växer efter att man tagit bort/förlorat en bit av den
- Erytropoesen stimuleras vid hög höjd om kroppen utsätts för syrebrist.

- **[Kliniskt]** 12 timmar efter att man tagit bort en bit av levern kommer den att börja återskapa sig själva för att till sist bli helt återbildad. Detta beror på att levercellerna ofta är i G0 fas och sedan med hjälp av tillväxt stimuli och inhibitorer kan stänga av och på sin delning

PATOLOGISKT

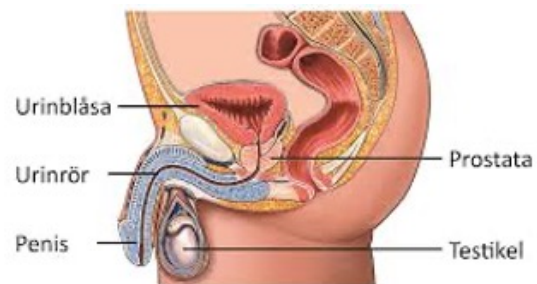
- Den mest patologiska hyperplasin beror på överdrivna stimuli av hormoner eller tillväxtfaktorer.
- **[Kliniskt]** När balans mellan östrogen och progesteron blir fel kan det ske hyperplasi i livmoderns epitel, vilket leder till abnorm menstruationsblödning. Detta kallas för endometriehyperplasi.
- **[Kliniskt]** Hypofysadenom är en godartad tumör i en körtel. Tumören kan leda till ökad aktivitet i hypofysen, och därmed ökad frisättning av trofiska hormoner. Detta får binjurebarken att genomgå hyperplasi.
- **[Kliniskt]** Virusvårtor orsakade av Verruca vulgaris bildas genom skivepitelhyperplasi. Infektion drabbar de basala keratinocyter, vilka då uppreglerar receptorer för tillväxtfaktorer.

PROSTATA – BG FALL

[Fysiologi]

Både urinrör och sädesledaren går igenom prostatan. Den är placerad anterior om rektum diktan mot vägen emot rektum – detta gör man kan **[K]** palpera prostata via rektum.

Funktion är att producera ett basiskt sekret till sädesvätskan som gör att sperman klarar av att leva i vaginas sura miljö.

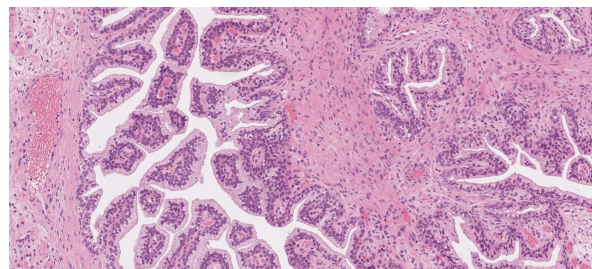


[Patologi]

När man pratar om prostatahyperplasi så pratar man om BPH, Benign prostatahyperplasi, eller godartad prostataförstoring. Detta är i simplaste termer en stor massa celler som gör att prostatan växer i storlek, men de är inte cancer. Synonym till diagnosen är nodulär prostatahyperplasi eftersom tillväxterna visar sig som nodulära strukturer. Då detta sker så klämmer den förstörade prostatan på urinröret vilket gör att man inte kan kissa ut allt urin (residualvolymen ökar), vilket leder till att man måste gå på toaletten mycket oftare.

Histologiskt kan man observera:

- Flerskiktad epitelstruktur
- Flertalet celler i stromat
- Ökat antal körtlar som ligger nära varandra
- Stökig struktur??



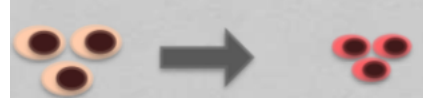
[Kliniskt]

Förutom att känna storlek på prostata så mäter man PSA, Prostataspecifikt antigen i blodet. PSA är ett enzym som klyver portioner till sekretet som sperman behöver. Vid åldrade (och där med förstoring av prostatan), samt vid cancer, prostatit (inflammation), eller vid BPH så kommer PSA vara högre pga. att mer PSA läcker ut i blodet.

PSA är alltså inte en infektion på cancer, utan endast förstörd prostata. Där referensvärdet är < 3 microgram/liter. Dock så är lågt/normalt förhöjt ett tecken på ej cancer. Vid test gör man även tidsmiktionen och blåstömningsförmåga.

ATROFI

Cellerna krymper på grund av minskade funktionella behov eller existerande begränsningar.



- Cellerna kan ha sämre funktion, men de är inte döda
- Kan dessutom minska i antal

Cellatrofi vs. vävnadsatrofi

Vävnadsatrofi är en **irreversibel** process som beror på ett minskat antal celler (apoptos) och/eller minskad storlek på cellerna. **Cellatrofi** å andra sidan är en helt **reversibel** process och innebär enbart att cellerna minskar i storlek.

FYSIOLOGISK

Fysiologiska orsaker till atrofi kan vara minskad endokrin stimulering och åldrande. Även vanligt vid:

- Embryologi där vissa strukturer tillbakabildas
- Efter graviditeten när livmodern minskar i storlek
- Åldrande, såsom muskelmassa.
- Involution i thymus under tonåren, när vävnaden i thymus ersätts av fettvävnad.

PATOLOGISK

- Nedsatt belastning "workload" t.ex. om man blir sängliggandes för länge
- Hypoxi - brist på syre leder till atrofi i det engagerade området
- Förlorad/minskat innervation (nervförbindelse till muskler, hud och organ)--> upphörd signalering i synapserna. Detta finner man i degenerativa sjukdomar.
- Förlorat/minskat blodflöde
 - Ischemi pga långsam minskning ger atrofi (oftast)
 - Snabb minskning leder till nekros (oftast)
- Minskad näring leder till självnedbryning för att få näring
- Förlorad endokrin stimulans (hormoner) → kan vara ett resultat av svält

- Tryck på grund av vävnadskompression → gips

MEKANISMER

Atrofi sker från två håll, ökad nedbrytning av proteiner i cellen samt en minskad translation och proteinsyntes. Proteinsyntesen minskar genom att vi får en sänkt metabol aktivitet. Nedbrytningen sker framförallt genom ubiquitin-proteasom-vägen. Detta är ofta ett resultat av näringsbrist samt utebliven workload som gör att ubiquitin ligaser fäster ubiquitin på cellulära proteiner. Ibland förekommer även autofagi vid atrofi vilket innebär att cellen "äter upp sig själv" för att minska näringsbehovet. Detta kan synas genom autofagiska vakuoler i cytoplasman. Man kan även se att cellerna får en ökad benägenhet för apoptos

METAPLASI

En reversibel förändring där en differentierad celltyp byts ut mot en annan differentierad celltyp som är mer anpassad efter den stress som har initierat adaptationen.



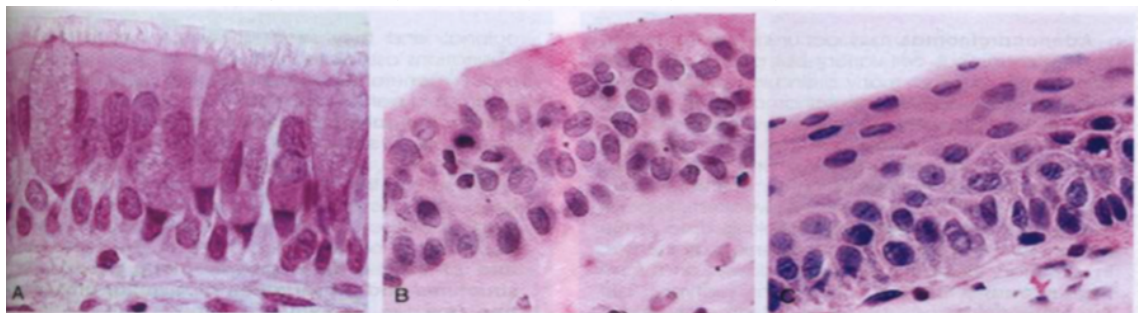
- Vanligtvis sker förändringen i epitel

FYSIOLOGISK

Metaplasia av endocervix, vilket är när cellerna i endocervix går ifrån cylindriska till platta under puberteten.

PATOLOGISK

- Den vanligaste metaplasin är övergången från cylindriskt, cilierat epitel till skivepitel i luftvägsslemhinnan hos rökare. Skivepitelet är bättre anpassat att överleva i den typen av stress som rökningen innebär. Dock saknar det nya epitelet mukussekretion och cilier som behövs för att skydda luftvägarna från skada och transportera bort irriterande partiklar. Leder till att rökare oftare är sjuka. Bilden visar transfereringen från respiratoriskt epitel till skivepitelmetaplasia i bronkerna.



MEKANISMER

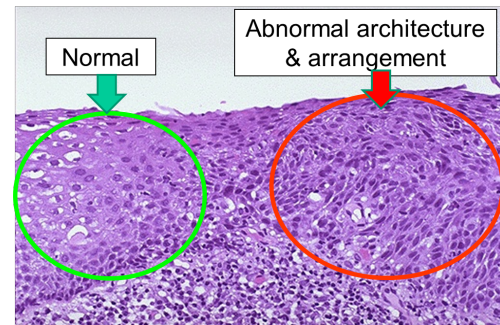
De redan differentierade cellerna kommer ej att transdifferentiera utan det är stamcellerna som kommer att re-programmeras genom att nya transkriptionsfaktorer bildas, vilket ger upphov till nya fenotyper.

- Denna väg styrs av cytokiner, tillväxtfaktorer och komponenter i de extracellulära matrix.

DYSPLASI

Dysplasi kan ses som ett förstadie till neoplas. En oordnad växt som har olika karaktärsdrag:

- Oordnad tillväxt (proliferation av celler)
- Förlorad enhetlighet
- Avvikande cellutseende, atypi
- Avvikande kärnutseende (mörkare kärna, samt kärnans storlek förhållande till cytosolen ökar)
- Huller om buller i tillväxt riktning



MEKANISM

Detta är en reaktion på långvarig och svår irritation eller infektion. Detta uppstår oftast i metaplastiskt eller hyperplastiskt epitel. Dysplasi, precis som de andra adaptationerna är beroende av tillväxtfaktorer och är därmed reversibelt och inte cancer. Metaplastiska och hyperplastiska celler är mogna och differentierade till skillnad från dysplastiska celler som har en STÖRD differentiering. Man kan se strukturella skillnader såsom att det är många celler, cellatypi, hyperkromatiska kärnor och mindre cytoplasma. Man kan dessutom observera pågående mitoser.

Anledningen till att det klassas som reversibelt är att cellerna kan dö och ersättas av normal vävnad.

Dysplasi kan klassas utifrån låggradig och höggradig dysplasi. Låggradig dysplasi innebär att man fortfarande kan hitta normala celler. Vid höggradig dysplasi har hela vävnaden ersatts av atypiska celler. Ett exempel där dysplasi kan förekomma är i cervix, vid en HPV infektion.

TENTAFRÅGOR

Vad är skillnaden mellan dysplasi och metaplasi? Ge exempel på metaplasi.

Metaplasi innebär att en redan differentierad celltyp kommer att transformeras och bilda en annan typ av differentierad celltyp som är mer anpassad efter stressoren som aktiverade adaptationen. Metaplasi innebär ofta en genetisk reprogrammering. Exempel på detta är **skivepitelmetaplasi i perifera bronker** hos rökare eller **metapalsi av endocervix**, vilket är när cellerna i endocervix går ifrån cylindriska till platta under puberteten. Dysplasi innebär en störning i mognadsprocessen och uppstår oftast i hyperplastisk eller metaplastisk epitel genom mutationer.

Beskriv mikroskopiskt utseende av metaplastiskt och dysplastiskt skivepitel

Metaplastiskt skivepitelet har samma mikroskopiskt utseende som normalt, differentierat/skiktat skivepitel. Dysplastiskt skivepitelet uppvisar mikroskopiskt störd differentiering med ökning av celler, variation i cellernas form och storlek (**pleomorfism**), **kärnatypi** (ökad kärnstorlek, hyperkromasi) och förändrad inbördes ordning av cellerna/störd skiktning. Läs mer under *Patologisk histologi*.

Beskriv vad som skiljer atypi och dysplasi

Dysplasi är en renodlad neoplas utveckling medans atypi är en beskrivning av hur något ser avvikande ut, en dysplasi har oftast atypiska celler, en atypi behöver inte vara neoplastisk. Exempel på detta reaktiv inflammatorisk atypi. Dysplasi: dysplasi i cervix CIN 1-3

CELLSKADA

VAD KAN ORSAKA CELL- ELLER VÄVNADSSKADA?

Det finns två olika grupper av faktorer som kan orsaka skada:

Endogena faktorer

- Inflammation
- Genetiska sjukdomar (ex. inlagringssjukdomar)
- Metabola rubbningar

Exogena faktorer

- Fysikalisk påverkan (ex. mekaniskt trauma, värme/kyla eller strålning)
- Kemiska ämnen (ex. toxiner, alkohol eller tungmetaller)
- Infektiösa agens (ex. bakterier, virus eller svampar)

Ischemi är den vanligaste orsaken till cell- eller vävnadsskada, och innebär lokal syrebrist på grund av bristande till- eller avflöde av blod till ett område.

Hypoxi är ytterligare en vanlig orsak till skada, vilket kan uppkomma av flera olika anledningar. Exempelvis genom anemi (blodbrist), defekter i hemoglobin eller sänkt syrehalt i luften.

CELLSKADOR - REVERSIBLA

Att en cellskada är reversibel innebär att cellerna efter avslutad påverkan från faktorer kan återgå till det "normala". Cellskador kan i huvudsak delas upp i två olika huvudgrupper:

Hydropisk degeneration

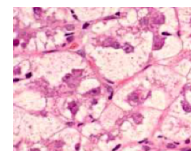
Den vanligaste reversibla cellskadan och innefattar de skador där cellen sväller och bildar vakuoler (vätskefyllda blåsor).

Intracellulära ackumulationer

Till denna grupp räknas bland annat inlagringssjukdomar, vilket innebär att en viss substans ansamlas inuti cellen.

HYDROPISK DEGENERATION

Vid denna typ av cellskada sväller cellen samt bildar vakuoler. Detta medför att cellens **cytoplasma ökar i storlek**. OBS! Detta är en reversibel cellskada.



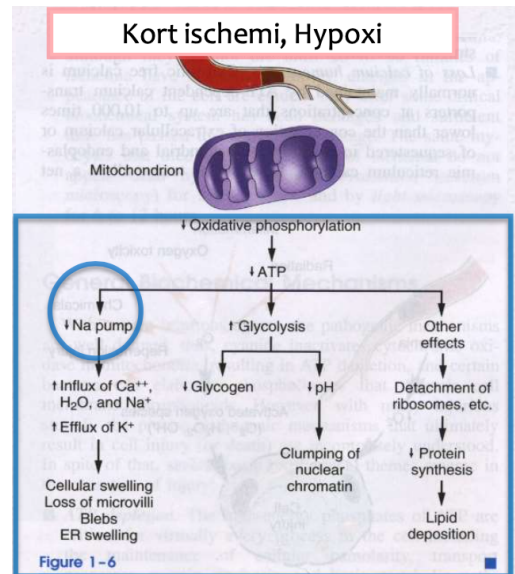
Händelseförlopp

Vid kort ischemi eller hypoxi kommer celler i det drabbade området att börja ta skada. Detta genom att den oxidativa fosforyleringen i mitokondrien minskar, till följd av försämrad syretillgång (kännetecknen för just hydropisk degeneration) vilket då även leder till minskad nyproduktion av ATP. Även skador på cellmembranet genom perforiner eller toxiner kan orsaka detta.

Minskad syretillgång → minskad oxidativ fosforylering → minskad ATP-tillgång.

ATP-bristen leder i sin tur till:

- Sänkt aktivitet hos Na⁺-pumpar, vilket ökar det cellulära inflödet av joner och vatten → bl.a. cellsvullnad och cellblåsor
- Ökad glykolys → minskat pH och minskat glykogenlager
- Minskad proteinsyntes → ökad lipid-inlagring



Händelseförloppet är detsamma som vid cellsvullnad som går att läsa under *Homeostasen*.

INTRACELLULÄRA ACKUMULATIONER

Inlagring är en abnorm ansamling av ett ämne i kroppen, vilket i vanliga fall beror på metabola störningar i celler. Dessa ansamlingar av ämnen kan lokaliseras i cytoplasman, inom organeller (vanligast lysosomen), i cellkärnan eller extracellulärt. I de allra flesta fall, där störningarna kan kontrolleras eller stoppas, är en intracellulära ackumulation en reversibel cellskada. I vissa fall orsakar dock dessa typer av sjukdomar skada, vilket kan leda till död av både vävnad och patient. Ett stort antal ämnen kan inlagras:

- Normala: vatten, lipider, elektrolyter
- Abnorma exogena; mineraler, infektiösa agens
- Abnorma endogena; defekt syntes eller metabolism
- Ämnen med distinkt färg; pigment

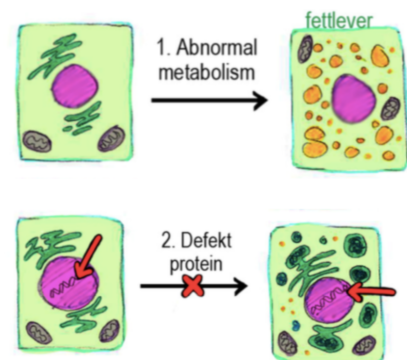
Det finns fyra olika mekanismer som ligger bakom den intracellulära inlagringen - de är:

Abnormal metabolism

Ett normalt endogent ämne produceras i normal eller förhöjd omfattning, där cellen är oförmögen att metabolisera eller utsöndra ämnet tillräckligt snabbt.

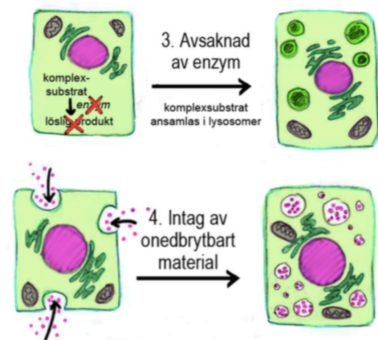
Defekt i proteinveckning och transport

Vid vissa genetiska eller andra defekter kommer proteiner att veckas, förpackas, transporteras eller utsöndras felaktigt. Ett exempel på detta är **amyloidos** där dessa proteiner ansamlas intracellulärt eller extracellulärt eller alfa-1-antitrypsinbrist (som leder till en brist på enzym)



Brist på enzym

Vid enzymbrist/medfödd-enzymdefekter kommer vissa metaboliter inte kunna brytas ned och då kommer metaboliten att ansamlas. Exempelvis Gauchers sjukdom.



Intag av icke nedbrytbara material

Ett kroppsfrämmande (exogent) ämne ansamlas eftersom cellen vare sig kan metabolisera eller utsöndra det pga rätt enzym inte finns. Exempel på detta är antrakos (kol) i lungan men även asbest.

FÖRFETTNING - STEATOS

Förfettning, även kallat **steatos**, beror på abnorm fettmetabolism, där fettproduktionen överstiger fettnedbrytningen. Förfettning förekommer allra främst i levern (sköter stor andel av fettmetabolismen), men kan även förekomma i andra organ.

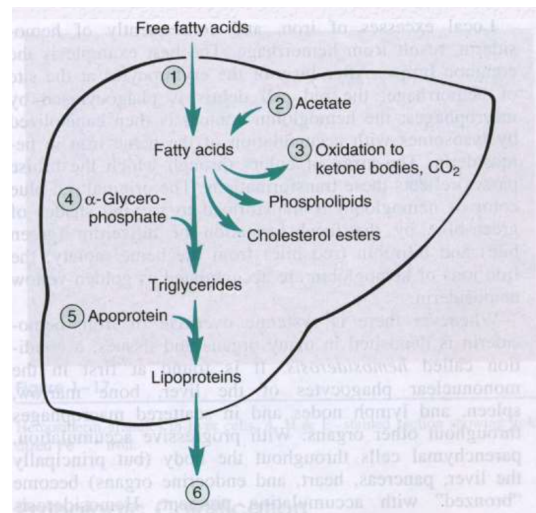
Vilka mekanismer orsakar förfettning?

Ökat inflöde av FFA - Detta kan bero på bland annat diet, insulinresistens, alkohol eller svält.

Ökad syntes av FFA från acetat - En följd av alkohol.

Minskad oxidation av FFA - Kan orsakas av både alkoholkonsumtion eller hypoxi. Vid nedbrytning av alkohol används en stor mängd NAD^+ för att oxidera alkoholen → stora mängder NADH bildas. Den ökade mängden NADH har i sin tur inhiberande konsekvenser på β -oxidationen, samtidigt som den stimulerar till fettsyrsyntes. I sista steget av alkoholnedbrytningen övergår acetat till acetyl-CoA, vilket är en intermediär till fettsyrsyntesen → ökad bildning av FFA.

Siris: Vi använder NAD^+ för att oxidera alkoholen istället för att bryta ned fett



Kort och gott: Förfettning i levern orsakas av en ökad fettsyrsyntes och en minskad β -oxidation, vilket leder till att TAG och FFA ansamlas.

Minskad syntes av apoproteiner → apoproteiner bygger upp lipoproteiner vilket ger oss en minskad mängd lipoproteiner som kan transportera iväg fett.

ALFA 1- ANTITRYPSINBRIST

Muterat alfa-1-antitrypsin → Inlagring av muterat alfa-1-antitrypsin beror på en mutation i proteinet, vilket gör att det inte kan transporteras från ER eller veckas rätt. Proteinets blir därför kvar och fastnar i ER. Alfa-1-antitrypsin

har i cellen till funktion att minska aktiviteten hos enzymer som bryter ned bakterier och främmande vävnad, men vid brist (pga mutation) på alfa-1 antitrypsin får dessa enzymer ingen naturlig broms, vilket för att kroppens egna vävnader börjar förstöras.

IKTERUS (ej sjukdom utan symptom)

Bilirubin → Ikterus, vilket är en obalans mellan produktion och utsöndring av bilirubin (restprodukt vid hemoglobinnedbryning). Bilirubin får en gulaktig färg i vävnader.

HEMOSIDEROS

Uppstår vid en överinlagring av ferritin (innehållande järn). Järn lagras normal i celler ihop med apo-ferritin och bildar ferritin-miceller. Stora ansamlingar av ferritin kallas för hemosiderin. Hemosiderin-ackumulation är ofta patologisk, förutom i organ där röda blodkroppar huvudsakligen finns, tillverkas eller bryts ned. Såsom i benmärg, lever och mjälte. Lokalt kan man få hemosideros i form av ett blåmärke. Systemiskt kan man drabbas av hereditär hemosideros eller sekundär till följd av transfusion eller stora mängder alkohol.

LYSOSOMAL

Vid lysosomala inlagringssjukdomar får vi en inlagring av icke nedbrytbara substanser (ex. lipider) till följd av **defekta lysosomala enzymer**. De kan då inte hjälpa till att bryta ned komplexa substrat och substanser, vilket leder till att dessa ämnen börjar lagras INUTI lysosomerna.

Gauchers sjukdom orsakas av brist på enzymet glukosylceramidasa. Enzymbristen medför att glukosylceramid inte kan brytas ned utan inlagras i kroppens **makrofager**, vilket leder till att olika organ, främst mjälten och levern, förstoras och skadas.

AMYLOIDOS

Amyloidos är ett tillstånd som uppstår till följd av en ansamling av felveckade proteiner som bildar fibriller (=små trådliknande strukturer som förekommer i och runt cellen). Flera fibriller kan aggregera och dessutom binda in både glukosaminoglykaner och proteoglykaner (innehåller sockergrupper), vilket histologiskt ger fibrillansamlingen en infärgning som liknar stärkelse (amylor, därav namnet). De allra flesta amyloida inlagringarna är extracellulära, men det finns ett antal intracellulära inlagringar också.

Hos människan finns 37 amyloidproteiner som kan forma proteinaggregat av amyloid struktur, vilket innebär att de har en lättare tendens att strukturera sig i beta-flak vid en liten mutation. Av dessa är 4st intracellulära och 34 extracellulära (dvs en är både och). Proteinerna som aggregeras till fibriller är sekretoriska. Gemensamt för dessa sjukdomar är att vävnaden innehåller:

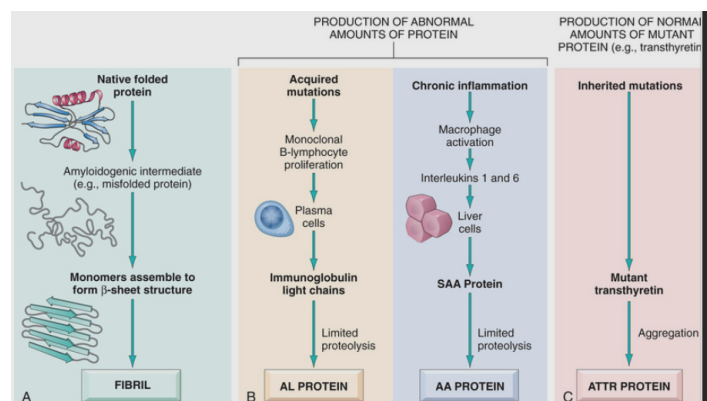
1. **Fibriller**: alltså en fiberliknande, ogrenad struktur.
2. **Proteiner är i sekundärstruktur** - och specifikt just veckat i en beta-flak-struktur.
3. **Att vävnaden kan färgas in med hjälp av kongo-rött.**

Uppkomst av amyloid

Vanligtvis så bryts felveckade proteiner ned av proteasomen, men vid amyloidos så fungerar inte kvalitetskontrollen → felveckade proteiner ansamlas utanför cellen och börjar forma patologiska aggregat. Dessa kontrollmekanismer försämras med åldern.

Olika sorters amyloidos

Amyloidos kan delas upp i två olika grupper, symptomen av sjukdomen kommer variera beroende



på vilken typ man har. Därefter kan man dessutom klassa amyloidosen som ärftlig, hereditär, eller inte.

(1) Systemisk amyloidos

Det finns 15 stycken systemiska amyloidoser.

- Primär amyloidos (AL amyloid) är vanligtvis systemiskt fördelad och den vanligaste formen av amyloidos. De bildas genom att defekta plasmaceller (B-celler) syntetiserar abnormalt stora mängder av de lätta kedjorna i immunoglobuliner, vilka ej fullständigt kan brytas ned av cellen. Deras lätta kedjor kan då aggregera för att sedan lagras in i vävnader runt om i kroppen. Kan utvecklas till cancer i benmärgen.
- Sekundär amyloidos (AA amyloid) är akutfasproteiner som syntetiseras i hepatocyterna vid stimuli av de proinflammatoriska cytokinerna IL-1 och IL-6. Detta sker bland annat vid långvariga inflammationer, kroniska infektioner eller vid vissa cancer. Vid långvariga inflammationer bildas för mycket akutfasproteiner som ackumuleras → amyloid. **Serumamyloid A (SAA)** är ett exempel på ett sådant protein.
- ATTR-amyloidos (TTR-amyloidos) är den **vanligaste formen av ärftligt amyloidos** även så kallat **skelleftesjukan**. Denna form orsakas av defekt i transthyretin (TTR), vilket är ett transportprotein som bildas i levern och transporterar tyroxin samt retinol i blodet). Det är främst genom mutationer av proteinet som får amyloidos att uppkomma. Proteinerna ansamlas i perifera och autonoma nerver vilket ger upphov till nedsatt känsel, nedsatta reflexer samt kan ge inlagring av plack i hjärtat vilket kan ge hjärtrubbningar. Levertransplantation görs för att förhindra produktion av muterat TTR.

(2) Lokaliserad amyloidos

Det finns 15 stycken olika typer, vilka enbart är verksamma i en eller maximalt två olika vävnader. Exempelvis Aβ i hjärna → alzheimers samt andra varianter som leder till diabetes typ 2 eller prionsjukdomar.

Hereditär amyloidos (ärftligt)

Utgör 1/3 av amyloidsjukdomar och innebär att sjukdomen är ärftlig. Dessa varianter debuterar i regel före 50 års ålder och är autosomalt dominant, men har en varierande penetrans (sannolikhet att få fenotypen).

50% av alla amyloidsjukdomar uppträder spontant utan känd genetisk bakgrund, medan resterande uppfattas ha samband med organismens åldrande,

EXOGENA SUBSTANSER

Substanser som är av icke nedbrytbart material som vi i huvudsak får i oss genom inandning eller förtäring.

- **Kol** → Antrakos, dilaterar bronkioler i lungorna.
- **Kisel** → Silikos
- **Asbest** → Asbestos

CELLDÖD - IRREVERSIBELT

Irreversibla skador leder till cell- och vävnadsdöd genom nekros, vilket innebär att cellen i fråga uppnått **point of no return**. Detta innebär den punkten i ett skadeförlopp där cellen efter detta kommer att genomgå nekros, vilket innebär att cellen där och då är utom räddning. Detta tillstånd kan nås på två olika sätt:

- **Irreversibel mitokondrieskada** - Cellen kan inte längre tillverka energi, vilket leder till död.
- **Membranskada** - Cellens integritet och struktur kan inte längre upprätthållas.

Det finns två typer av celldöd, nekros och apoptos, vilka skiljer sig från varandra i mekanismer, morfologi samt dess roll i patologi och fysiologi. Vid en cellskada som inte är reversibel, exempelvis vid membranskada eller enzymläckage från lysosomer etc. blir resultatet nekros. Apoptos å andra sidan induceras när DNA eller cellproteiner skadas så illa att det ej går att reparera. Nekros är alltså ALLTID en patologisk process medans apoptos inte behöver vara kopplad till patologisk cellskada och inducerar heller inte inflammation

	Nekros	Apoptos
Cellstorlek	Ökad (sväller)	Minskad (krymper)
Kärna	Pyknos → karyorrhexis → karyolys	Sönderdelning till större fragment
Plasmamembran	Störs	Intakt
Cellinnehåll	Enzymatisk nedbrytning, kan läcka ut	Intakt, kan släppas ut i apoptotiska kroppar
Intilliggande inflammation	Vanligt förekommande	Nej
Fysiologisk eller patologisk roll	Alltid patologisk, kulminering av irreversibel cellskada	Ofta fysiologisk, kan vara patologisk

NEKROS

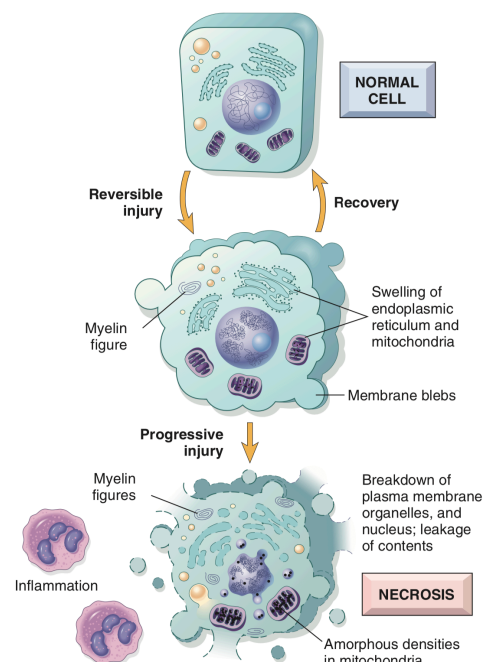
Nekros är den typ av celldöd som är associerad med förlust av **membranets integritet** och därmed **läckage av cellens enzymer**. Detta leder till inflammation som försöker eliminera de döda cellerna samt starta en reparationsprocess.

Rent histologiskt kan man se olika förändringar i cellen. Dessa tar dock en stund att se, dock kan man mäta cellspecifika ämnen som läcker ut mha blodprov.

- Eosinofil ökar i cellen
- Cellen svullnar
- Cellmembranet skadas
- Mitokondrierna blir svullna
- Förändring av kärnan
 - Pyknosis - kärnan blir klumpig
 - Karyolys - Kärnan löses upp
 - Karyorrhexis - Kärnan fragmenteras

Enzymer som hjälper till att bryta ned kan delas upp i två delar:

- **Heterolys** beskriver nekros inducerat av hydrolytiska enzymer från omgivande celler - ofta inflammatoriska celler.
- **Autolys** är nedbrytning av en cell genom sina egna enzymer.



MORFOLOGI

De morfologiska förändringarna kan delas upp i fem olika kategorier varvid de två första är de så kallade huvudtyperna.

KOAGULATIONSNEKROS

Koagulationsnekros är den vanligaste nekrosen och är en **långsam** process.

Vävnadsarkitekturer bevaras flera dagar efter celldöden, vilket beror på att skadan som orsakat nekrosen även skadar enzymer. Detta innebär att ingen proteolys av de döda cellerna kan ske. Ischemi är en vanlig orsak och ger en ärrbildning efter ett tag. Kan ske överallt förutom i hjärnan.

De morfologiska förändringar i vävnaderna liknar koagulerad vävnad.

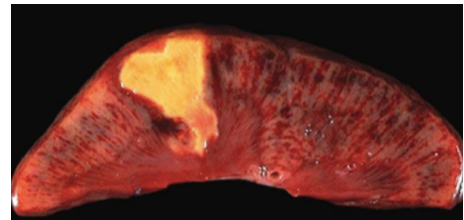
Karakteristika för koagulationsnekros:

- Cytoplasman svullnar och blir eosinofil (mer rosa)
- Kärnan genomgår pyknos (krymper), karyolys (kromatin förstörs), karyorrhexis (fragmentering) för att sedan bli anukleära celler.
- Inflammatoriska celler och makrofager fragmenterar den nekrotiska vävnaden under några veckor.
- Fibroblaster och endotel bildar granulationsvävnad
- Fibroblasterna bildar fibros efter några månader

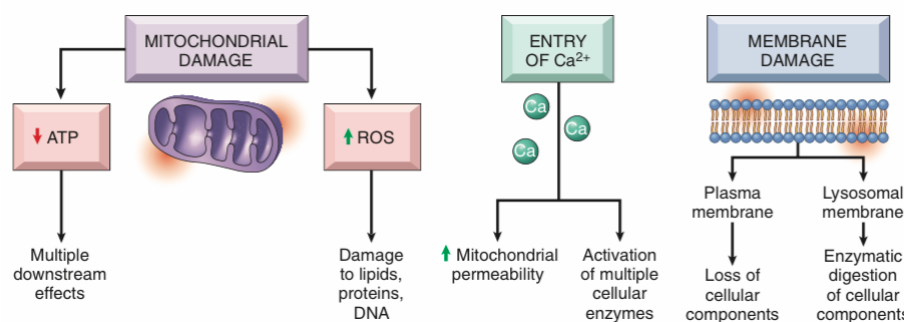
Processen tar lång tid pga att skadan oftast beror på syrebrist, vilket gör att läkningsprocessen också tar längre tid då de inte nås av adekvata mängder näring och syre.

FÖRLOPP VID ISCHEMISK CELLDÖD - Nekros

Ischemi, eller syrebrist i vävnad, är en katastrofal situation för kroppen. Bristen på syret kommer leda till minskad aktivitet i Na/K-pumpen i cellerna på grund utav att möjligheterna till aerob energiutvinning begränsas. Detta medför även att Ca^{2+} -pumpar att sluta fungera, vilket leder till att kalcium i cellen ökar. Kalciumet ökar den mitokondriella permeabiliteten vilket gör att energitillverkningen upphör. Dessutom aktiveras flertalet cellulära enzymer som bryter ned organeller och kärnan, samt så börjar lysosomerna utsöndra lysosomala enzymer som bryter ned vävnader ännu mer.



Enzymerna från lysosomen läcker ut i blodet där de kan mätas (CK; LD; ALP; ASAT; ALAT). På så sätt kan man, vid exempelvis hjärtinfarkt göra en uppskattning över hur stor infarkten är.

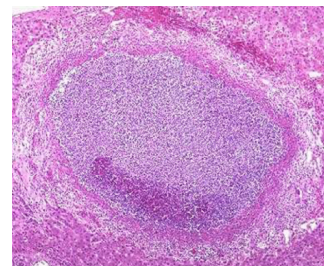
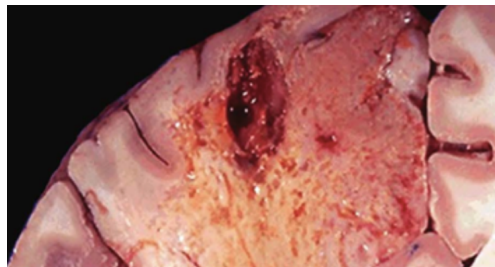


Även detta kan läsas om förlopp under cellskada vid *Homeostas*, eller steget innan irreversibel skada → *hydropisk degeneration*.

FÖRVÄTSKNINGSNEKROS/KOLLIKATIV NEKROS

Denna typ av nekros observeras vid infektioner vid en specifik punkt där leukocyter frisätter **kraftfulla hydrolytiska (nedbrytande) enzymer** och kallas även för liqyefaktionsnektros. Denna typ av nekros är en **snabb process**. De döda cellerna bryts ned och bildar en uppluckring av vävnad som så småningom byts ut av ett hålrum med vätska (var, på latin pus) → cystbildning, som vid större skada kan utvecklas till makroskopiska cystor med serös vätska, som kan bli flera cm stora (månader).

- Detta sker i bland annat **hjärnan** där det sker en snabb nedbrytning som sedan lämnar ett cystiskt hålrum med eventuell kapsel.
- I vävnader som blir infekterade skapas oftast en varböld (abscess)

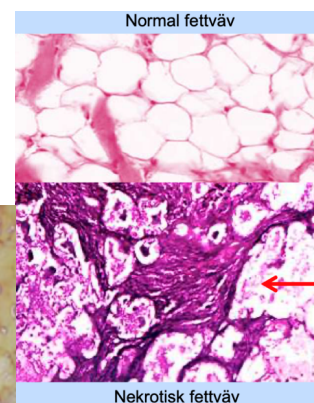
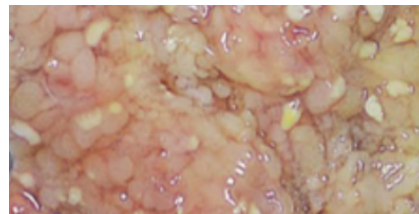


FETTVÄVNADSNKROS

Inträffar oftast vid frisättning av pankreasenzymer där fettceller går i nekros såsom akut pankreatit (alkohol, gallsten) eller trauma mot fettvävnad.

Fettcellernas membran kommer att lösas upp vilket gör att lipaser omvandlar TAG till fria fettsyror.

- Fettsyrorna kommer tillsammans med kalcium att bilda kalciumtvålar, som visar sig som vita områden.

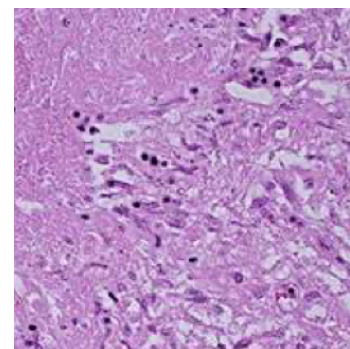


Detta kan ske i bröstvävnad och är en vanlig diffdiagnos till bröstcancer. Detta är helt ofarligt och beror på att TAG och FFA frisätts och reagerar med kalcium. Däremot vid akut pankreatit är tillståndet allvarligt och livshotande.

OSTIG NEKROS

Ses vid infektionssjukdomar så som mykobakterier eller vid **tuberkulos** i lungan. Detta bildar ett tydligt inflammatoriskt område som ser ut som färskost → sönderfallande celler som bildar området.

Detta orsakas av kronisk inflammation där makrofager fortsätter att bekämpa bakterierna, där rekryteringen av makrofager fortsätter under en lång tid. Kaseös nekros (annat namn för ostig



nekros) är ofta omringat av en samling med makrofager och andra inflammatoriska celler som ihop kallas för ett **granulom**.

Här finner man **langhans** eller **främmande kropps jätteceller**.

FIBRINOID NEKROS

Fibrinoid nekros är ett specifikt mönster av irreversibel, okontrollerad celldöd som inträffar när antigen-antikropp komplex deponeras i blodkärlens väggar tillsammans med fibrin.

PATOLOGISK FÖRKALKNING

Uppstår som följd av en abnorm inlagring av kalciumsalter vilket kan ske på två sätt.

DYSTROFISK FÖRKALKNING

Vid denna typ av förkalkning fungerar kalciummetabolismen normalt och vi har därmed **normala kalciumnivåer**. Däremot kommer lagringen av kalciumfosfat att ske i persisterande (kvarvarande) vävnadsskada - exempelvis nekrotisk vävnad.

- Intracellulärt kommer Ca^{2+} att lagras i mitokondrier vid celldöd
- Extracellulärt sker membran faciliterad förkalkning genom att kalcium binder till fosfolipider i döda cellers membran.

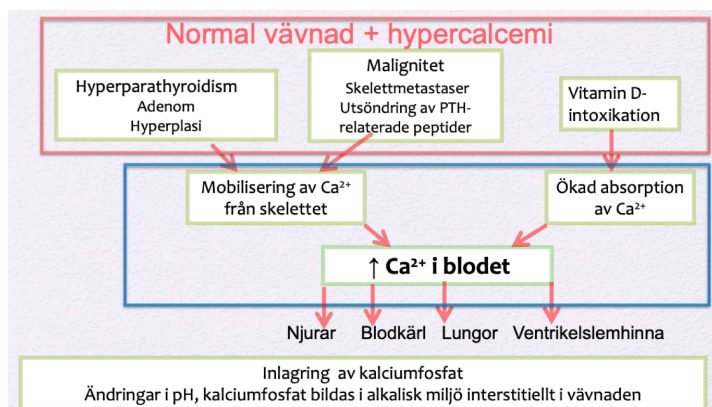
Kliniskt relevanta tillstånd

Aortastenosis, ateroskleros, akut pankreatit, kogenital bicuspid aortaklaff m insufficiens, kroniskt nekrotiserande infektion (tuberkulos ex.), fettvävsnekros vid trauma mot fettväv med mer. *Känns irrelevant nu men återkommer under CREN.*

METASTATISK FÖRKALKNING

Denna form är kopplad till **hypercalcemi i normal vävnad**. Alltså, vid provtagning kan man se förhöjda kalciumnivåer tillskillnad från dystrofisk förkalkning där vi enbart ser en lokal förkalkning. Hypercalcemi kan uppstå till följd av:

- Ökad parathyroidea-sekretion
- Bennedbrytning - Sker vid vissa sjukdomar.
- Vitamin D-intoxikation - Detta leder till ökad Ca^{2+} -absorption.
- Nedsatt njurfunktion - Försämrade fosfatexkretion leder till sekundär hyperparathyroidism.

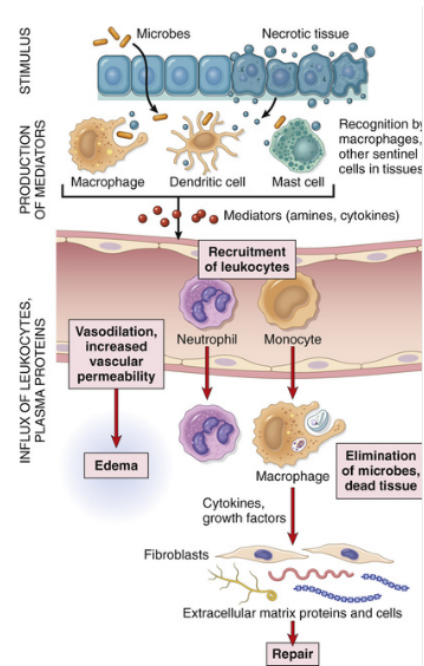


INFLAMMATION

Kort och gott är en inflammation en "reaktion i en vaskulariserad (blodkärl försedd) vävnad som svar på en skada som ser till att rekrytera nödvändiga molekyler och celler". Uppemot 80-90% av alla sjukdomar har en inflammatorisk komponent. Trots att en inflammation är kritisk för att bekämpa bland annat infektioner, så är den inflammatoriska processen skadlig.

En vanlig inflammationsreaktion kan delas in i fem steg:

1. **Skadlig stimuli** - känns igen av värdcellen och andra molekyler i den extravaskulära vävnaden
2. **Rekrytering** - Från cirkulationen strömmar leukocyter och plasmaproteiner genom att kärlen dilaterar samt endotelet tillåter leukocyterna att ta sig ut i vävnaden
3. **Verkar** - De tillkomna cellerna aktiveras och verkar för att eliminera det som orsakar skadan
4. **Kontroll & avslut** - Processen avslutas för att förhindra långvarig inflammation
5. **Reparation**



VAD UTLÖSER INFLAMMATION?

Finns fler exempel varvid de nedanstående var de som ansågs viktigast

Exogena faktorer

- **Infektioner** - bakterier, virus, svamp etc
- Främmande kropp - stickor eller smuts

Endogena faktorer

- **Autoimmunitet och allergi** - Kroppen reagerar på yttre ofarliga ämnen. Båda sjukdomarna tenderar att aktivera

långvarig inflammation då orsaken till inflammationen (självantigen eller antigen i vår miljö) inte kan elimineras.

- **Nekros** - kommer alltid att inducera inflammation då molekyler som frisätts under nekros kommer orsaka en reaktion från omgivande vävnad

AKUT INFLAMMATION

Den akuta inflammationen är en **ospecifik**, stereotyp reaktion på vävnadsskada som aktiveras av vårt medfödda immunförsvar. Detta innebär att oavsett vad som aktiverat inflammationen kommer reaktionen vara densamma.

Funktion:

- Eliminera skadlig agens
- Begränsa spridning
- Gynna och aktivera specifikt immunsvär

- Optimera läkning

Kardinalsymtom:

- Rubor - Rodnad
- Calor - Lokal värmeökning
- Tumor - Svullnad
- Dolor - Smärta
- Functio laesa - Nedsatt funktion i vävnader

Diagnostik

- Svårt eftersom akut inflammation är ospecifik
- Prover för att utesluta infektion
 - CRP - mått på inflammation, kan även urskilja om det beror på bakterier eller virus.
 - Lymfocytprover

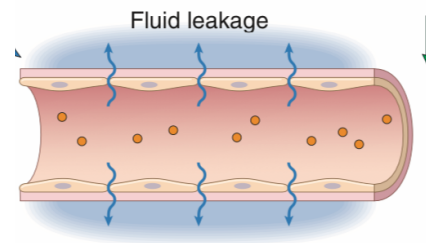
Den typiska akuta inflammationen visas som exemplet under *Inflammation*. Utfallet hur skadan läker kan sedan ses under *Utfall*.

VASKULÄR REAKTION

Det sker två centrala processer i blodkärlen vilket är vasodilatation samt ökad permeabilitet.

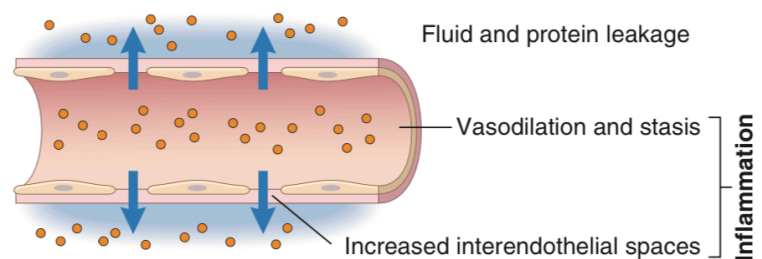
Vasodilatation (prostaglandiner och NO)

- Ger ett ökat blodflöde och därmed rodnad och värmeökning
 - Möjliggör för neutrofiler att komma i kontakt med endotelet
- Ökat hydrostatiskt tryck i kapillärerna pga ökat flöde
 - Balansen mellan kolloidosmotiskt och hydrostatiskt tryck ruckas. Proteinfattig vätska (**transudat**) kan därmed läcka ut. Se bild.



Ökad permeabilitet (TNF-alfa och IL-1)

- Bildas spalter mellan endotelcellerna som möjliggör för proteinrik vätska att pressas ut (**Exsudat**)
 - Möjliggör för plasmaproteiner och leukocyter att ta sig till det skadade området



Ödem betecknas vara ett överskott av interstitialvätska, vilket innebär att det är en effekt av både exsudat och transsudat

Mekanismer

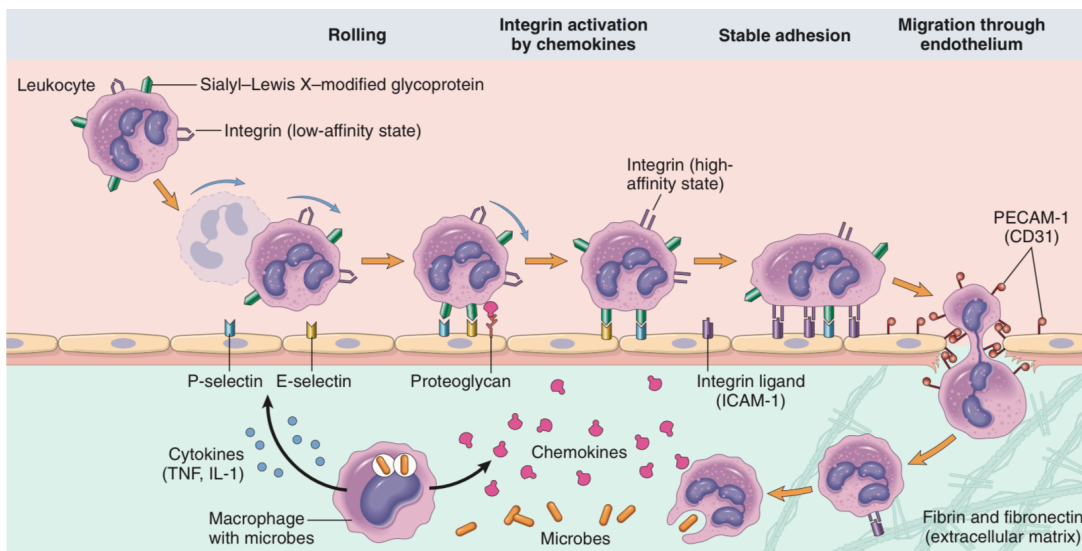
- **Endotelial kontraktion i venoler** - medieras framförallt av histamin (mastceller)
- **Endotelial retraktion i venoler** - syftar till att öppna det interendotheliala utrymmet. Medieras framförallt av TNF-alfa och IL-1.
- **Dilatation i arterioler** - Histamin, prostaglandiner påverkar glatt muskulatur direkt. Serotonin (från trombocyter) bidrar indirekt genom att stimulera endotelcellerna att tillverka NO.
- **Endoteliskada** - Cellerna kommer att gå i cellnekros pga toxiner, immunkomplex och proteaser vilket gör att cellerna lossnar från basalmembranet. Antar att detta ökar permeabiliteten? Står inget vettigt.

“Syftet med dessa effekter är att maximera förflyttningen av plasmaproteiner och leukocyter från blodet, till vävnaden med pågående inflammation”

CELLULÄR REAKTION

En viktig funktion av inflammatorisk respons är att leverera leukocyter till platsen för skadan samt att aktivera dem.

- Utträde av neutrofiler genom extravasation.
 - Adhesion till endotelet (Histamin, selektiner, ICAM-1)
 - Transmigration//diapedes (PECAM-1)
- Kemotaxi (Bakteriella produkter, IL-8 mfl)
- Aktivering
 - Leukocyterna börjar producera fria radikaler, lysosomala proteaser och lipaser vilket leder till vävnadsskada. Läckaget orsakar leukocytinducerad vävnadsskada som uppstår genom degranulering och leukocytnekros.
- Fagocytos
 - Neutrofilerna kommer sedan att gå i apoptos innan de och den skadade vävnaden fagocyteras av makrofager.



UTFALL

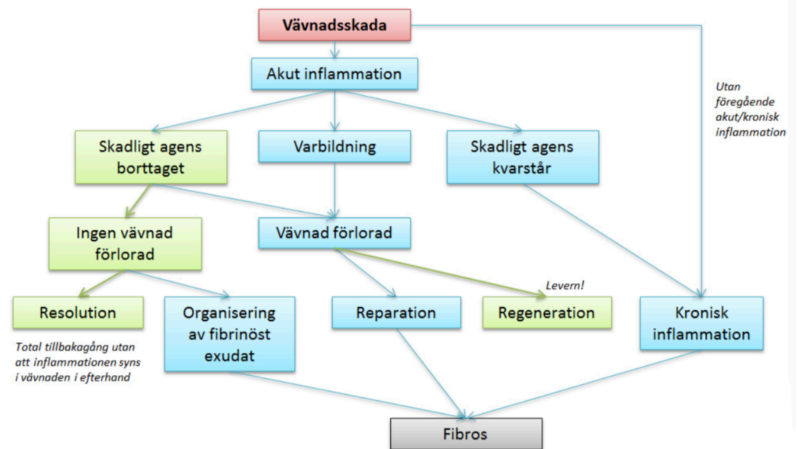
Utfallet hur skadan läker kan sedan delas in enligt bilden. De **gröna rutorna** symboliserar att vävnaden blir helt återställd, medan de **blå** visar ärrbildning (fibros).

Fullständig resolution

- Det bästa möjliga utfallet och uppstår ifall orsaken till inflammationen elimineras utan någon vävnadsskada. Detta sker om skadan är liten eller om parenkymala celler kan regenerera

Läkning - fibros

- Bindväv ersätter parenkymet när det skett en omfattande vävnadsskada. Antingen är vävnaden inkapabel till att regenerera (som hjärtmuskelceller eller skelettmuskelceller) eller så finns det ett överflöd av fibrinogen exsuderat i vävnaden som vid kontakt med trombocyter bildar fibrin.



Kronisk inflammation

- Om orsaken inte kan elimineras (persisterande orsak) kommer den akuta inflammationen övergå till en kronisk.

MORFOLOGISKA MANIFESTATIONER

SERÖS INFLAMMATION

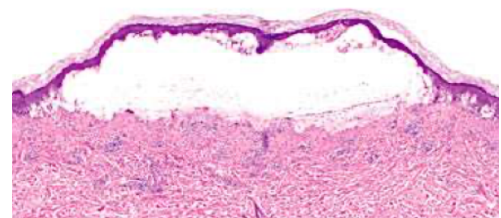
Vad händer: Ansamlas transudat (proteinfattig vätska) i vävnad

Orsak: Friktion- eller brännskada

Speciellt: Blir ingen ärrbildning

Exempel:

- **Urtikaria (nässelfeber)**
 - Giftet i nässlan gör att substans P frisätts → vasodilatation
- **Brännblåsa**
 - Frisättning av histaminer som retar nervtrådar → substans P frisätts
 - Epitelet längst ut på huden kommer att gå i nekros



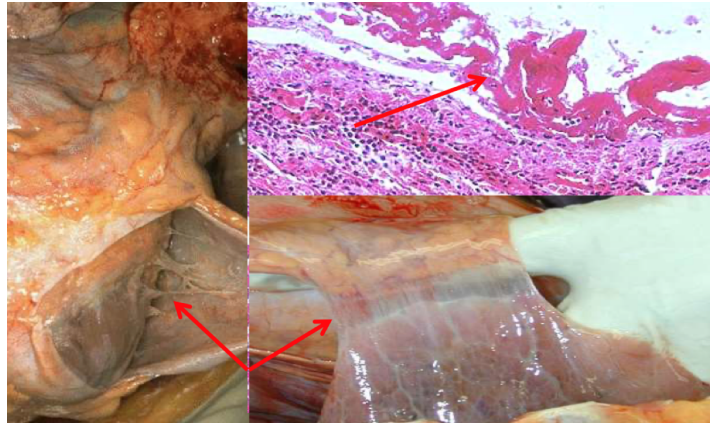
FIBRINÖS INFLAMMATION

Vad händer: Proteinrik vätska ansamlas (exsudat), oftast i kroppskaviteter på grund utav de stora ytorna som blir inflammerade. Ett stort utträde av fibrinogen sker, som vid kontakt med trombocyter bildar fibrin.

Orsak: Stor ökning i vaskulär permeabilitet

Exempel:

- Pleurit (inflammation i lungsäcken)
- Perikardit (inflammation i hjärtsäcken)



PURULENT INFLAMMATION

Vad händer: En varig (pus) inflammation

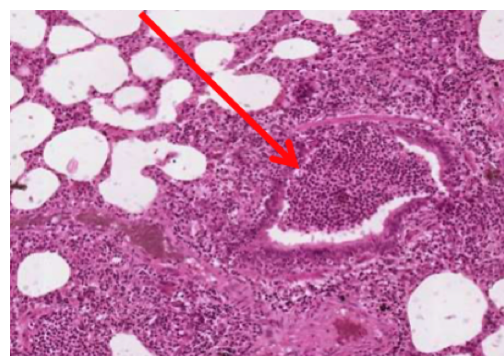
Orsak: Neutrofiler migrerar till inflammerade området ofta orsakat av bakteriella infektioner som orsakar **förvätskningsnekros**. Hållrummet som bildas fylls med var. Var/pus är ett exsudat som är fyllt med neutrofiler och cellfragment från nekrotiska celler.

Olika varianter

- **Diffus** → sprider sig i bindväv eller djupt i huden utan några skarpa avgränsningar.
- **Lokaliserad** → kan vara en abscess (varböld) i ett specifikt område, eller en suppurativ (varbildande) inflammation i en kroppshålighet

Exempel:

- Bronkpneumoni
- Lobulär pneumoni
 - Lokal? Hel lob blir fylld med var



HEMORRHAGISK INFLAMMATION

Vad händer: Endotelceller är skadade

Orsak: Endotelceller är skadade, vilket gör att erythrocyter tar sig genom kärlet.

Exempel:

- Septisk vaskulit



KRONISK INFLAMMATION

Den kroniska inflammationen har en längre duration (minst två veckor) och kan uppstå som en progression av den akuta inflammationen eller som en smygande process utan tidigare akut reaktion. Den kroniska inflammationen aktiverar både det medfödda och det specifika immunförsvaret. I motsats till akut inflammation, där vi får **vaskulära förändringar, ödem och neutrofil-infiltrationen** kommer den kroniska inflammationen att kännetecknas av **tre parallella processer**.

Karakteristika:

- **Mononuklerärt cellinfiltrat** - makrofager, lymfocyter, plasmaceller rekryteras
- **Vävnadsförstörelse** - som till stor del beror på de inflammatoriska cellerna
- **Fibros** - Vid försök till läkning sker kärlnybildning (angiogenes) och fibroblastproliferation (bindvävsproduktion som försöker ersätta skadad vävnad).

Orsaker:

- Intracellulär infektion - som är otillgängligt för medfödda immunförsvaret
- Främmande kroppar
- Autoimmuna sjukdomar
- Cancer

Vad händer?

Den kroniska inflammationen kräver ett samarbete mellan det medfödda och det adapterande immunförsvaret. Den viktigaste cellen i de flesta kroniska inflammationer är makrofagen. Detta beror på dess frisättning av cytokiner och tillväxtfaktorer samt förmåga att fagocytera patogener och vävnader.

MORFOLOGISKA MANIFESTATIONER

Kronisk ospecifik inflammation eller kronisk granulomatös inflammation är de två histologiska utseendena. Det man huvudsakligen undersöker histologiskt är främmande kropp eller nekros.

KRONISK "OSPECIFIK" INFLAMMATION

Om en inflammation är ospecifik menar man att man inte i mikroskop kan se vad som är orsaken till inflammationen. Histologiskt kan man avgöra vad som är fel, men man kan inte dra slutsatser om vad orsaken är.

Observera att namnet är lite missvisande då vi vet att det inte finns någon ospecifik kronisk inflammation då den kroniska inflammationen förutsätter en rekrytering av det specifika immunförsvaret. Exempel:

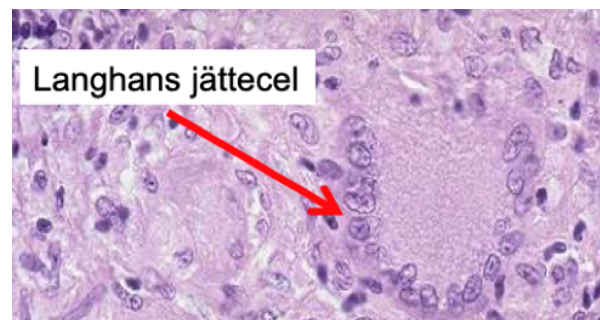
- **Celiaki (glutenintolerans)**



GRANULOMATÖS INFLAMMATION

Kronisk inflammation som domineras av aktiverade makrofager. Makrofagerna kan utveckla stora mängder cytoplasma varvid de börjar likna epitelceller. Dessa celler, även så kallade **epiteloida celler** har förmågan att fusera och bilda **multinukleära jätteceller** (se *patologisk histologi*). Jättecellerna i sin tur kan delas upp i två grupper:

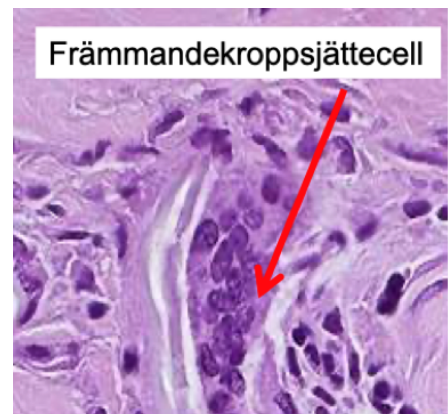
- Langerhans typ - förekommer vid tuberkulos exempelvis. Hästskoformade.
- Främmande kroppstyp - uppstår runt främmande materia i huden



Jättecellerna tillsammans med härder av epiteloidcellerna bildar så kallade **granulom** som är det medicinska namnet på en svullnad med ett kornigt utseende. Granulomen kan vara omringade av lymfocyter, fibros och plasmaceller.

Även granulomen kan delas upp i två typer:

- **Kaseös** - ostig nekros som innebär att granulomet har en central nekros. Vanligt vid exempelvis tuberkulos
- **Non-kaseös** - granulom utan nekros. Syns oftare vid främmande kropp-reaktioner och vid Chrons sjukdom samt sarkoidos



Exempel på sjukdomar med granulom och dess karakteristika. Återkommer under CREN:

- **Tuberkulos**; distinkta epiteloida granulom med kaseös (nekrotisk) kärna som en immunologisk reaktion mot mycobakterier.
- **Sarkoidos**; Non-kaseös kärna.
- **Allergisk alveolit**; indistinkta granulom

KLINISKA EFFEKTER & KOMPLIKATIONER

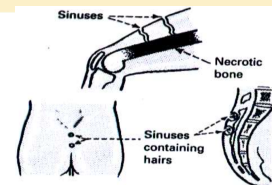
De kliniska effekterna som gäller både för kroniska och akuta inflammationen medieras av de proinflammatoriska cytokinerna som leder till följande symptom:

- Feber
- Aptitlöshet och trötthet
- Leukocytos - vid akut inflammation (förhöjt värde av vita blodkroppar)
- Lymfocytos - vid kronisk inflammation (förhöjt värde av adaptiva vita blodkroppar)
- Förhöjd sänka (SR)
- Ökning av alla akutfasproteiner - fibrinogen och alfa-1-antitrypsin

Komplikationer som kan uppstå vid kronisk inflammation

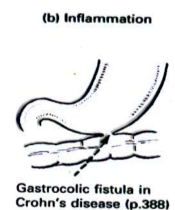
Sinusformation

Sinus är en kavitet med endast en öppning. Sinus är en abnorm förbindelse mellan det inflammerade området och hud- eller slemhinneytan. Sinus avgränsas av granulationsvävnad och har en öppning som ofta är epitelbeklädd. Sinus uppstår på grund av kronisk inflammation ofta i anslutning till kroppsfrämmande material.



Fistelbildning

En fistel är en patologisk förbindelse, eller gång, mellan två platser som inte är förbundna i en frisk kropp. Fisten avgränsas av granulationsvävnad och har två öppningar som ofta är epitelbeklädda. Fistel uppstår till följd av kronisk inflammation, trauma, kirurgi eller nekros. Denna måste opereras eftersom denna gång epiteliseras och inte kommer att sluta. Kan leda till skivepitelcancer.



AA-amyloidosis

Beror på en ihållande stegring av prekursor-proteinet SAA, vilket kan orsakas av en kronisk inflammation eller infektion.

CELL- OCH VÄVNADSREGENERATION

Utgå från organet vid inläsning, hud → ärr, hjärnan → hålrum, lever njure → "kan" regenerera

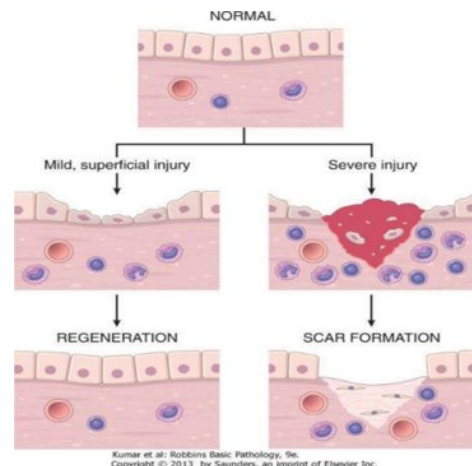
För att överleva har cellen en förmåga att reparera skador. Den inflammatoriska responsen vid en skada har alltså inte enbart till uppgift att eliminera skadan, utan dessutom sätta igång läkningsprocessen. Efter

inflammationsfasen kommer alltså proliferationsfasen att dra igång vilket innebär att cellerna kommer att börja dela på sig för att läka skadan. De celler som börjar dela sig är:

- Skadade celler som försöker återfå sin gamla struktur
- Vaskulärt endotel som gått sönder under skadan - för att skapa en miljö där nutrierter kan nå fram
- Fibroblaster som delar sig och ger ärrvävnad

Reparationen sker genom två typer av reaktioner och sker oftast som en kombination av dem två:

- Regeneration
 - Oskadade celler prolifererar samt att det sker en mognad av vävnadsstamceller. Sker en fullständig resolution och reparation
- Ärrbildning/reparation
 - Ersättning av ärrvävnad, kollagen och fibros.



Vilken typ av läkningsprocess som aktiveras beror på vilken vävnad vi tittar på.

OLIKA TYPER AV VÄVNADER

LABILA

Labila vävnader är där celler ständigt förloras och därmed har en konstant och snabb regeneration av celler. Detta sker med hjälp av stamceller och omogna progenitorer. Dessa celler hamnar aldrig till G0 fasen i cellcykeln. **Labila vävnader kan alltså alltid regenerera efter en skada, så länge stamcellerna är vid liv.**

Exempel på dessa vävnader är hematopoetiska stamceller i benmärgen, ytepitel på huden, i vagina och munhålan. Kan även vara epitelet i GI-kanalen.

STABILA

Stabila vävnader å andra sidan byggs upp av celler som normalt befinner sig i G0-fasen i cellcykeln och är därmed inte prolifererande. Däremot, vid rätt stimulans av tillväxtfaktorer, kan de med **begränsad kapacitet**, att regenereras.

Exempel; Levern (som är lite av ett undantagsfall då det har väldigt hög kapacitet till att regenerera), njurar, pankreas, lymfocyter, mjälte.

PERMANENTA

Består av färdig differentierande, icke-prolifererande celler. Dessa celler kallar man även postmitotiska då de aldrig delar sig efter födseln. Skador på dessa vävnader är **irreversibla** och **resulterar alltid i ärrvävnad**.

Exempel; Nervceller, hjärtmuskelceller, men även skelettmuskelceller.

REGENERATION

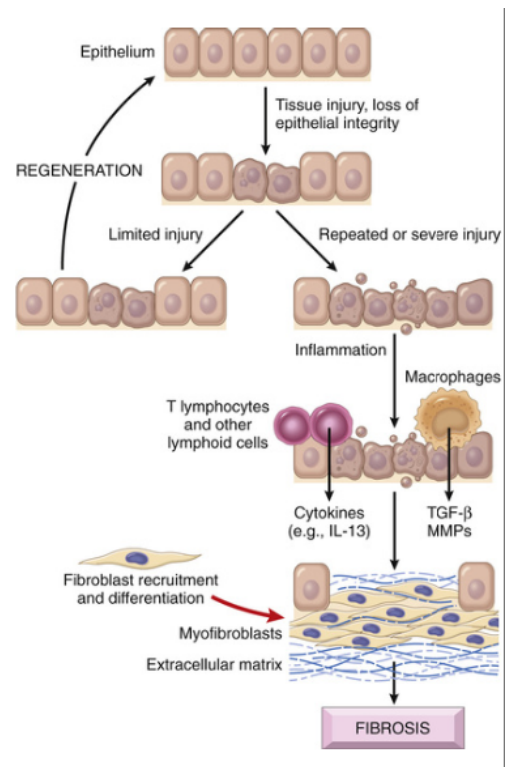
Vissa vävnader kan ersätta de skadade delarna och på så vis återbygga vävnaden så att den återgår till ett normalt utseende. Denna processen kallas för regeneration. Regeneration sker genom proliferation av celler som överlevt skadan och som fortfarande besitter förmågan att proliferera. I vissa fall kan även vävnadsstamceller hjälpa till att bidra till återskapandet av skadad vävnad.

ÄRRBILDNING/REPARATION

Om skadan istället är allvarlig eller kronisk och resulterar i skada på parenkymala celler (funktionella), epitel eller det stromala nätverket kan reparationen INTE ske med enbart regeneration (detta gäller även icke-delande celler, oavsett skada). I detta läge ersätts istället de skadade cellerna med bindväv, eller av en kombination av vissa celler och ärrvävnad.

Efter inflammation sker ärrbildningen i en sekvens som beskrivs nedan:

1. Formation av nya blodkärl från redan existerade blodkärl, vilket kallas för angiogenes.
2. Detta medför en migration av fibroblaster till det skadade området, vilket sedan följs av en proliferation. Rekryteringen och stimuleringen aktiveras av tillväxfaktorer så som PDGR, FGF-1 och TGF- β . Dessa utsöndras från inflammatoriska celler så som makrofager, mastceller och lymfocyter.
3. De nybildade kärlen, prolifererande fibroblasterna och leukocyter bildar tillsammans en rosa vävnad som kallas för **granulationsvävnad** inom 3-5 dagar (syns under sårskorpan). Till skillnad från fibros har vävnaden små kapillära kärl samt ett infiltrat av lymfocytiska celler och makrofager.
4. Granulationsvävnadens fibroblaster utsöndrar skleroproteinet prokollagen som i flera steg kommer att ändras kemiskt och utsöndras i det extracellulära rummet. Prokollagenet kommer sedan bilda komplexa nätverksfibriller som bildar fibros. Samtidigt tillbakabildas blodkärlen (devaskularisering) → gör äret vitt.



FIBROS

Fibros är något som bildas naturligt vid ärrbildning, men kan också uppstå som sjukdomstillstånd. Fibroblasterna kommer att bilda skleroproteiner prokollagen, som i flera steg ändras kemiskt och utsöndras därefter i det extracellulära rummet. Därefter bildar prokollagen komplexa nätverksfibriller - fibros. Det viktigaste cytokinet vid fibrosbildning är **TGF- β** som kan produceras av de flesta cellerna i granulationsvävnaden.

Viktigt att förstå skillnad mellan fibros och fibrin som är:

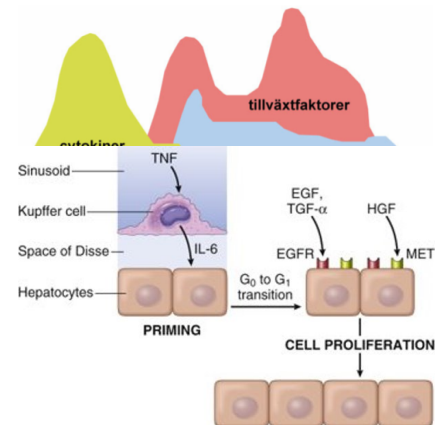
- Lösligt fibrinogen omvandlas till fibrinpeptider genom trombin och bygger upp fibriller till ett nätverk av fibrin

CYTOKINER OCH TILLVÄXTFAKTORER

Cellproliferation drivs av flera olika faktorer, vilket kan ses i bilderna till höger. I ett tidigt skede vid en skada/inflammation kommer olika typer av **cytokiner** att utsöndras, vilka har en viktig funktion för såväl immunförsvaret som i läkningsprocessen. Dessa signalämnen kommer (likt bilden till höger visar) kunna få vilande celler i G₀ att övergå till G₁ = påbörjar cellcykeln och gör sig redo för att kunna proliferera.

Tillväxtfaktorerna kommer i sin tur, efter att inflammationen lagt sig, kunna få cellerna att börja proliferera. Vilka tillväxtfaktorer som inducerar detta beror vävnadstypen, då olika vävnader stimuleras av olika tillväxtfaktorer.

Eftersom cellproliferation kräver att cellerna fördubblas, i både storlek och antalet organeller är detta en process som kräver energi och byggstenar. Detta innebär att **metabola faktorer** också spelar en viktig roll i läkningsprocessen, för utan material att bygga med är det svårt att reparera en skada.



CYTOKINER

Olika cytokiner är viktiga vid olika typer av inflammationer, nedan redovisas dessa.

Cytokine	Principal Sources	Principal Actions in Inflammation	In Chronic Inflammation		
In Acute Inflammation			IL-12	Dendritic cells, macrophages	Increased production of IFN- γ
TNF	Macrophages, mast cells, T lymphocytes	Stimulates expression of endothelial adhesion molecules and secretion of other cytokines; systemic effects	IFN- γ	T lymphocytes, NK cells	Activation of macrophages (increased ability to kill microbes and tumor cells)
IL-1	Macrophages, endothelial cells, some epithelial cells	Similar to TNF; greater role in fever	IL-17	T lymphocytes	Recruitment of neutrophils and monocytes
IL-6	Macrophages, other cells	Systemic effects (acute phase response)			
Chemokines	Macrophages, endothelial cells, T lymphocytes, mast cells, other cell types	Recruitment of leukocytes to sites of inflammation; migration of cells in normal tissues			
IL-17	T lymphocytes	Recruitment of neutrophils and monocytes			

TILLVÄXTFAKTORER

Olika vävnader påverkas i regel av olika tillväxtfaktorer, vilka redovisas nedan.

Table 2–9 Growth Factors Involved in Regeneration and Repair

Growth Factor	Sources	Functions
Epidermal growth factor (EGF)	Activated macrophages, salivary glands, keratinocytes, and many other cells	Mitogenic for keratinocytes and fibroblasts; stimulates keratinocyte migration; stimulates formation of granulation tissue
Transforming growth factor- α (TGF- α)	Activated macrophages, keratinocytes, many other cell types	Stimulates proliferation of hepatocytes and many other epithelial cells
Hepatocyte growth factor (HGF) (scatter factor)	Fibroblasts, stromal cells in the liver, endothelial cells	Enhances proliferation of hepatocytes and other epithelial cells; increases cell motility
Vascular endothelial growth factor (VEGF)	Mesenchymal cells	Stimulates proliferation of endothelial cells; increases vascular permeability
Platelet-derived growth factor (PDGF)	Platelets, macrophages, endothelial cells, smooth muscle cells, keratinocytes	Chemotactic for neutrophils, macrophages, fibroblasts, and smooth muscle cells; activates and stimulates proliferation of fibroblasts, endothelial, and other cells; stimulates ECM protein synthesis
Fibroblast growth factors (FGFs), including acidic (FGF-1) and basic (FGF-2)	Macrophages, mast cells, endothelial cells, many other cell types	Chemotactic and mitogenic for fibroblasts; stimulates angiogenesis and ECM protein synthesis
Transforming growth factor- β (TGF- β)	Platelets, T lymphocytes, macrophages, endothelial cells, keratinocytes, smooth muscle cells, fibroblasts	Chemotactic for leukocytes and fibroblasts; stimulates ECM protein synthesis; suppresses acute inflammation
Keratinocyte growth factor (KGF) (i.e., FGF-7)	Fibroblasts	Stimulates keratinocyte migration, proliferation, and differentiation

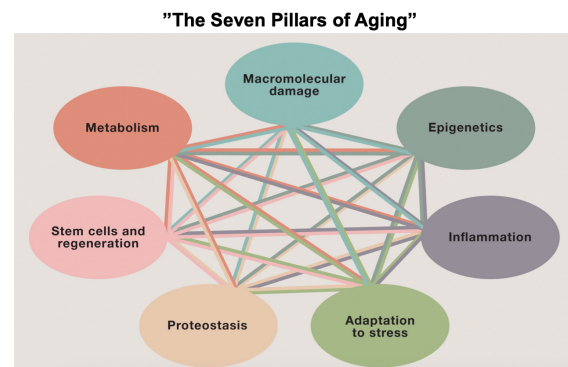
ECM, extracellular membrane.

GERONTOLOGI - LÄRAN OM DET NORMALA ÅLDRANDET

Ett åldrande innebär att det mesta går lite långsammare och fungerar sämre.

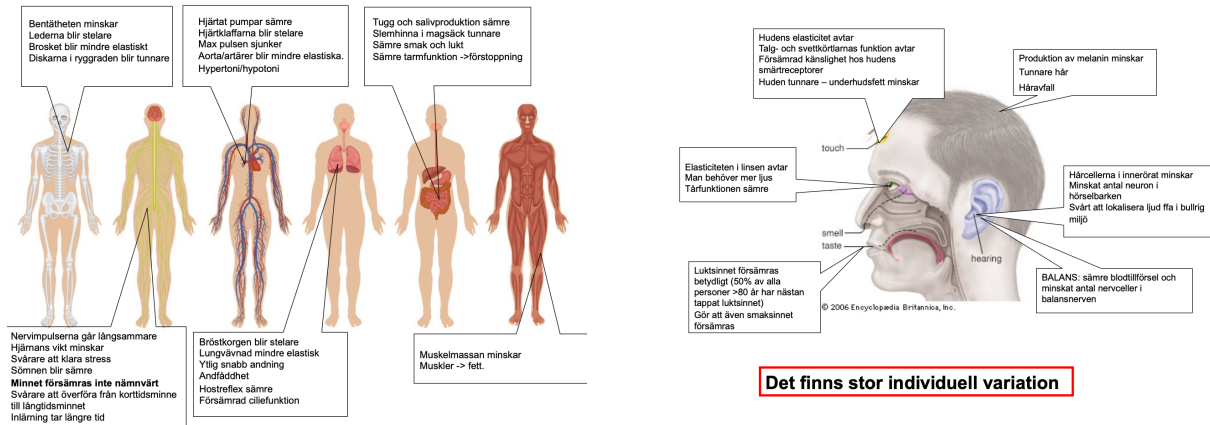
Med ökande ålder påverkas **samtliga organsystem**, vilket resulterar i:

- Minskad fysiologisk kapacitet
- Minskad elasticitet - Hud, senor, kärl m. fl.
- Minskad reservkapacitet - Mindre marginaler att jobba med, exempelvis kopplat till fysisk kraft och hjärtfunktion.
- Försämrat immunförsvar
- Minskad förmåga att adaptera till miljöförändringar



ORGANSYSTEM	EFFEKTER
Skelettet	• Bentäthet minskar • Brosket mindre elastiskt • Diskarna i ryggraden tunnare
Blodcirkulationen	• Hjärtat pumpar sämre • Hjärtklaffarna stelare • Aorta/artärer blir mindre elastiska
Mag-tarmkanal	• Slemhinna i magsäck tunnare • Sämre smak och lukt • Sämre tarmfunktion → förstoppning
Nervsystemet	• Långsammare nervimpulser • Svårare att klara stress • Sämre sömn • Minnet försämras INTE

Lungor	● Bröstkorgen stelare ● Lungvävnad mindre elastisk ● Försämrade ciliefunktion
Muskler	● Mindre muskelmassa ● Muskler → fett
FÖR MER INFO, STUDERA BILDERNA NEDAN	



VAD BEROR ÅLDERANDET PÅ?

Åldrandet beror av en sammanblandning av flera faktorer, såsom **ärftliga faktorer** (även kallade longevity genes), **cellulär senescence** (oförmögen till proliferation), **epigenetiska förändringar** (gene silencing) samt **ackumulering av skador och mutationer** (free radical theory of aging).

Ärftliga faktorer

Människan har ett väldigt komplext genom med gener som samverkar i ett integrerat nätverk för att skapa en funktion. **Tre faktorer verkar ha viktig betydelse för sannolikheten att bli gammal:**

- Immunitet och inflammation
- Glukoshomeostas
- Mitokondriell metabolism

OBS! Viktigt att ha i åtanke att det ALLTID råder stor individuell genetisk variation

CELLULÄR SENESCENCE

Senescence är ett vilotillstånd för celler som har skadats eller blivit för gamla → oförmögna att dela sig. Dessa celler är dock fortfarande **levande** och har kvar deras funktion.

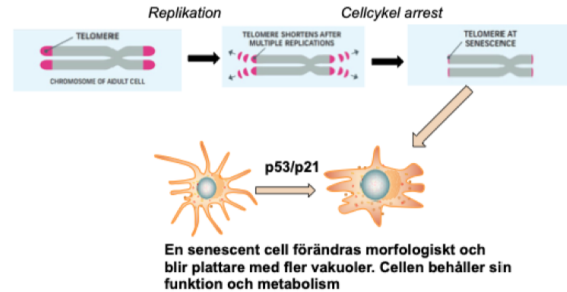
TELOMERER

Telomerer är repetitiva sekvenser i kromosomernas ändar som ej kopieras vid celledelning, vilket innebär att cellen vid varje delning går miste om en kort nukleotidsekvens. Telomerer fungerar på så vis som en buffert bestående av icke-kodande nukleotidsekvenser, vilket inte påverkar några kodande gener om de försvinner. Orsaken till att vi förlorar en bit av kromosomen vid varje replikation är för att DNA-polymeraset som bygger lagging strand är i behov av RNA primers för att kunna genomföra replikationen. Detta medför att när den

yttersta RNA-primern tas bort har inte DNA-polymeraset någonting att utgå ifrån och kan därför inte replikera de sista nukleotiderna → sekvensen blir kortare och kortare för varje gång.

När telomererna till sist tar slut skulle det vara skadligt för cellen att fortsätta dela sig, då detta skulle påverka dess faktiskt kodande gener. Detta får cellen att övergå till **cellulär senescence**.

Telomererna kortas till cellen inte längre kan dela sig. Även skadade celler kan stanna och övergå i senescence, utan att telomererna nödvändigtvis har skadats (**onkogen-inducerad senescence**). Senescensen regleras starkt av p53/p21 som ser till att cellcykeln stannar. På detta sätt förhindras det att cancer bryter ut. En senescent cell förändras morfologiskt och blir plattare med fler vakuoler, men den behåller sin funktion och metabolism.



OBS! I vissa celler, såsom könsceller och stamceller, finns enzymet **telomeras**. Detta enzym har i uppgift att motverka telomerförkortningen, och kan till och med förlänga telomererna. Våra somatiska celler blir kortare för varje replikation, vilket innebär att de har en begränsad livslängd. Våra könsceller å andra sidan har istället dessa skyddande funktioner för att fostret inte ska drabbas!

TELOMERLÄNGD

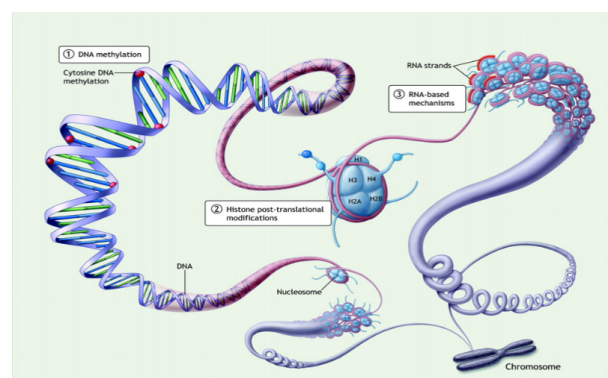
Telomerlängden avtar med åldern på populationsnivå, där det visat sig att männens telomerer generellt förkortas snabbare än kvinnornas. Det har även visat sig att telomerlängden påverkas av livsstil, där det hittats samband mellan högt BMI och korta telomerer.

Det är dock kontroversiellt hur man ska tolka telomerförändringar, då det inte är klarlagt om telomerlängden har betydelse för hälsan eller om det bara är en markör på "hur man mår".

EPIGENETISKA FÖRÄNDRINGAR (GENE SILENCING)

Vårt DNA innefattar ett stort antal gener, vars aktivitet kan regleras med hjälp av epigenetiska förändringar → celler får olika egenskaper.

- Ett sätt för cellen att påverka sitt egna genuttryck är genom DNA-metylering, vilket är ett sätt att inaktivera transkriptionen av gener. Detta görs genom att en metylgrupp främst adderas på cytosin, vilka följs av guanin. Denna följd kallas för CG-baser och förekommer frekvent i en gens promotorregion.
- Ett annat sätt att påverka genuttrycket är genom histonacetylering. Acetylering görs främst av lysiner vid histonernas N-terminal och leder till en mer öppen struktur hos kromatinet, vilket underlättar inbindning av TF. Acetylgrupperna är negativt laddade och öppnar därför upp kromatinstrukturen på grund av dess repellerande till det negativa DNA eller neutralisering av det annars positiva histonerna. Om acetylgruppen tas bort blir kromatinet kompakt → TF kan inte binda in → ingen transkription.



Enäggstvillingar har exakt samma genom och de förändringar de kan tänkas få i genomet kommer därför uteslutande bero på miljö. Det är därför det blir lättare att skilja på enäggstvillingar med åldern, då epigenetiska förändringar i genomet beror av miljö och livsstil.

ACKUMULERING AV SKADOR

Den viktigaste teorin bakom ackumulering av skador handlar om fria radikaler. Fria radikaler produceras av både **immunförsvaret** för att kunna avdöda mikroorganismer, men även av **mitokondrier** i elektrontransportkedjan där omkring 2-3% av syret läcker ut som superoxidradikal eller väteperoxid.

- Produktionen av superoxidradikal har visat sig öka med åldern, vilket då ställer ökade krav på cellens reparationsmekanismer.

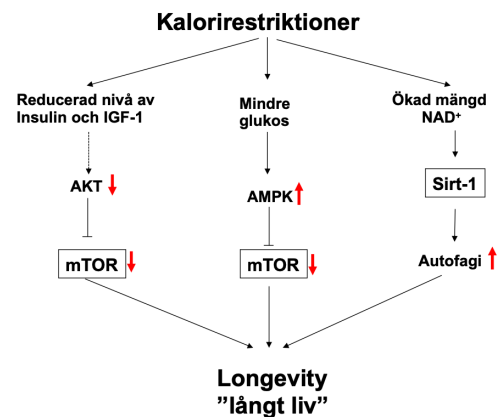
FUN FACT: Det mitokondriella DNA:t drabbas av fler mutationer än vårt vanliga DNA eftersom att mitokondrien har sämre reparationsmöjligheter.

CENTENARIANS

De människor som blir över 100 år kallas för centenarian, och studier har visat att dessa personer har högre nivå av antioxidanter (såsom C- och E-vitamin) än kontrollgruppen 75-99 åringar. Det har dock visat sig att sjuklighet INTE kan undvikas genom extra tillskott av antioxidanter, utan där är det bra kost och motion som gäller.

KALORIRESTRIKTIONER

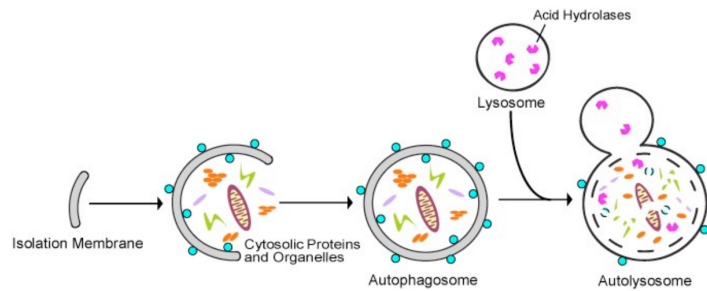
Det har visat sig att reducerad kost till 50-70% av sitt dagliga energiinnehåll (med bibehållen mängd vitaminer och mineraler) har positiv påverkan på livslängden. Vid kalorirestriktioner reduceras nivån av insulin och IGF-1, vilket minskar aktiviteten av kinaset AKT (= signalväg aktiveras mer sällan). Detta leder i sin tur till minskad aktivitet av **mTOR**, vilket är ett protein som i normala fall stimulerar till proliferation samt hämmar autofagi (vid kalorirestriktioner blir det omvända effekter). Det är proliferation av skadade celler som utvecklar cancer, vilket innebär att det på äldre dagar är mer fördelaktigt om cellerna delar sig långsammare.



Kalorirestriktion leder också till en ökad mängd NAD⁺, vilket ökar mängden sirtuiner, vilket är proteiner som ger ökad stresstolerans. Bland annat genom att öka autofagin. **Autofagi tycks vara en väldigt central mekanism som kan rädda cellen och ge den längre liv.**

AUTOFAGI

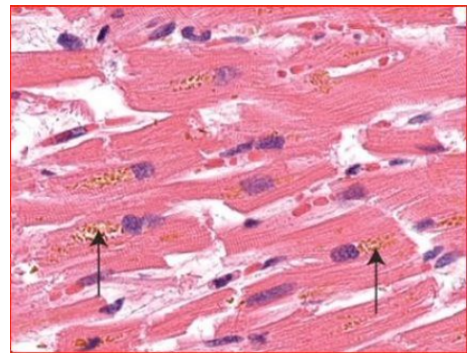
Autofagi är ett tillstånd vid allvarlig näringsbrist, där cellen inte bara genomgår cellcykelarrest, utan även kannibaliserar sina egna organeller, proteiner och membran. Förmågan att autofagera är inte bara viktig vid svält, utan fungerar även som ett återvinningssystem där gamla eller dysfunktionella delar av cellen kan återanvändas som byggstenar eller för att producera energi. Autofagi fungerar även som ett försvar mot bakterie- och virusinfektioner. De ämnena som autofagocyteras innsögs i en vakuol, för att sedan fusera med en lysosom.



LYSOSOMEN

Lysosomen kan ses som cellens återvinningscentral där olika typer av makromolekyler och andra ämnen kan brytas ned till byggstenar i form av lipider, aminosyror och glukos. Lysosomen består av en stor mängd degraderande enzymer, vilka endast är aktiva i lysosomens sura miljö (pH =4.5).

Vid reaktion mellan en aminosyragrupp i exempelvis ett protein och en karbonylgrupp i en sockermolekyl kan det bildas **AGE** (advanced glycation end-product) (samma sak som att bli AGE-modifierad), vilket är en slutprodukt som INTE har någon naturlig väg att brytas ned. Mängden AGE-modifierade molekyler i cellerna ökar därför med ökande ålder, och speciellt hos individer med höga blodsockervärden. AGE tillsammans med annat onedbrytbart material som ansamlas i lysosomen genom åren kallas för **lipofuscin** (ålderspigment), vilket försämrar lysosomens funktion. Lipofuscin kan histologiskt studeras (gulbrunt), och enklast i senescenta celler som inte längre delar sig (såsom i exempelvis hjärtmuskulatur) → mer och mer onedbrytbart material ansamlas och stannar där livet ut.



De proteiner som blir AGE-modifierade får förändrad struktur och försämrad funktion, vilket är anledningen varför de hamnar i lysosomen.

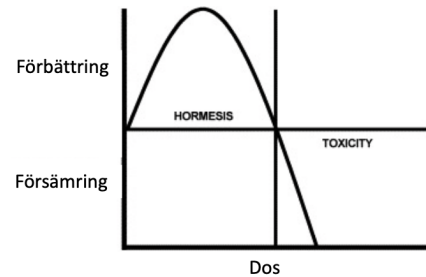
METODER FÖR ATT AKTIVERA AUTOFAGI

Eftersom autofagi bland annat tar hand om det som är skadat, så kan man medvetet orsaka lite skada för att få igång den här processen. Detta kallas för **hormes**.

HORMES

Exponering för låga doser av toxin/stress kan aktivera lagom nivåer av autofagi, vilket kan ha en stimulerande effekt på organismen. Små doser av stress kan alltså ha positiva effekter.

Mild stress ger små skador som aktiverar autofagi. Genom autofagi förnyas strukturer i cellen och ger bättre funktion. Detta är en av anledningarna till varför man tänker att träning är bra, eftersom det blir en form av hormes.



PROTEOSTAS

Proteostas är homeostas på proteinnivå och syftar till regleringen av mängden proteiner och dess funktioner i cellen. Med ökande ålder minskar kapaciteten att bibehålla proteostasen → högre risk för felveckningar och aggregat.

DIAGNOSTISKA METODER

HUR STÄLLS EN DIAGNOS?

- Det VIKTIGASTE vid fastställandet av en diagnos är **anamnesen (sjukdomshistoria)**, vilken innehåller patientens egna redogörelse för sina aktuella besvär. Anamnesen innefattar även uppgifter om tidigare sjukdomar, kroppsfunktioner m.m.
- **Status** - i vilket skick är patienten och är något synligt förändrat?
- **Biokemiska analyser** - Studerar molekyler och processer som förekommer hos patienten.
- **Avbildande metoder** - Hit räknas bland annat slätröntgen, DT, MR och ultraljud.
- **Fysiologiska metoder** - EKG, EEG, spirometri, arbetsprov med flera.
- **Histopatologisk undersökning** - Kolla i mikroskop
- **Odling**

RELEVANTA BEGREPP

REFERENSINTERVALL

För att veta vad som typer på sjukdom behöver man ha en referens över vad som är friskt. Denna referens kan skapas på fler olika sätt:

Learning by doing

Genom att lyssna på många hjärtan lär man sig hur ett friskt låter och kan då reagera när något avviker, eller genom att studera många lungröntgenbilder lär man sig hur en frisk lunga ser ut och noterar avvikelser hos en annan.

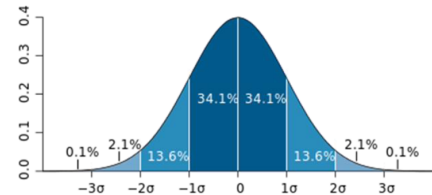
Provvärden

Genom att mäta en parameter på friska personer kan man skapa ett referensintervall, och på så vis se om ett värde avviker från de friska.

KVANTITATIVA VARIABLER

För kvantitativa variabler analyseras ett flertal, ofta 100-200, friska försökspersoner och värdena sammanställs. Av dessa värden kommer de mittersta 95% att kallas för **referensintervallet**, vilket innefattar medelvärdet $\pm 1,96$ SD OM värdena är normalfördelade.

Definitionsmässigt ligger 2,5% av de friska både under och över referensintervallet, men detta betyder **INTE** att de är sjuka.



GRUPP OCH INDIVIDVARIATION

Variationen i en grupp är i princip alltid större än för en enskild individ, vilket belyser vikten av att jämföra med patientens tidigare värden (är nästan alltid bättre referens än ett referensintervall framtaget för en grupp).

Exempelvis: Sjunker en man i B-Hemoglobin från 165 till 137 g/L (referensintervall för vuxna män: 134-170g/L) är detta sannolikt sjukligt trots att båda värdena är inom referensintervallet.

PARAMETRAR OCH LÖSNINGAR

Många parametrar uppvisar en naturlig variation som kan försvåra skapandet av ett heltäckande referensintervall. Detta kan bland annat bero på:

- Kön
- Ålder
- Etnicitet
- Position i menstruationscykeln
- Graviditet
- Tid på dygnet
- Tid på året

Lösningen till dessa variationer blev att intervallen subgrupperades:

- Kön- och åldersberoende referensintervall
- Morgonprov i fastande tillstånd (elimineras dygnsvariationens och kostens inverkan)
- Referensintervall beroende på position i menscykeln eller graviditetsstatus.

BESLUTSGRÄNS

För vissa parametrar lämpar sig en beslutsgräns bättre än ett referensintervall, där olika åtgärder görs baserat på om provet visar ett värde under eller över gränsen. Dessa beslutsgränser baseras på STORA epidemiologiska studier. Exempel på en parameter som använder beslutsgräns är:

P-D-dimer - Detta ämne mäts vid misstanke om en djup ventrombos (DVT) och är ett ämne som bildas när plasmin bryter ned fibrin i blodproppar. Ett högt värde av D-dimer indikerar att det förekommer tromber i cirkulationen (mycket fibrin har brytits ned), medan ett lågt värde tyder på att patienten inte har trombos.

Vid misstanke om en DVT ska man i princip alltid göra ett **Wells score**, vilket är ett poängbaserat diagnostikstöd för att prediktera sannolikheten för DVT innan ytterligare undersökningar. Skulle risken vara...

Låg - D-dimer undersöks. Om detta värde i sin tur också är lågt rör det sig inte om en DVT, men skulle D-dimer istället vara högt fortsätter undersökningen med ultraljud.

Hög - Ultraljud görs på direkten.

Det är inte alltid självklart att beslutsgränsen ska vara det värde som bäst skiljer sjukt från friskt. Ibland kan det vara av vikt att undvika **falskt negativa resultat** (sjuka patienter med "friska" prov). D-dimer (exempelvis) ska bara tas på personer där man bedömer att risken för trombosjukdom är låg. Beslutsgränsen är satt på en sådan nivå att ett lågt värde i princip ska utesluta sjukdom och misstanken kan avskrivas. Några få falskt negativa fall får dock accepteras, då gränsen annars skulle behöva vara för låg och testet därmed obrukbart (pga för många blir falskt positiva).

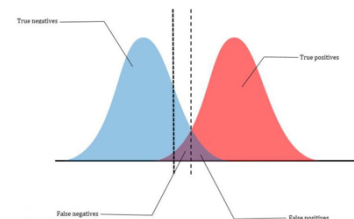
Utifrån fallet ovan

- Låg beslutsgräns leder till att "alla" sjuka fångas upp (tillsammans med en hel del friska), men det som är av vikt är att vi vet att de sjuka fångas upp. Detta medför således att de personer som får ett negativt svar sannolikt är friska, MEN alla friska har inte fått ett negativt svar.

EXEMPEL BESLUTSGRÄNS

I bilden till höger ser vi två olika populationer, utritade i form av två normalfördelningskurvor:

- **Röda** - Population med DVT
- **Blåa** - Population utan DVT



Strecket i mitten markerar den **första** beslutsgränsen. På x-axeln har vi D-dimer, där den sjuka populationen tenderar att ha mer D-dimer än den friska.

Vid den satta beslutsgränsen ses en viss andel, av den röda populationen, hamna under beslutsgränsen → **falskt negativa**. Det finns även en viss andel, av den blåa populationen, som hamnar över beslutsgränsen → **falskt positiva**. Beslutsgränsen är i detta fall satt på den nivån som bäst skiljer sjukt från friskt, det vill säga precis i mitten. Detta kan dock vara oerhört farligt då ett flertal sjuka patienter kommer få falskt negativa svar, vilket är **något man vill undvika!**

Ändring av beslutsgräns

Vid tillfällen, likt det ovan nämnda, flyttas beslutsgränsen mer till vänster, vilket innebär att det krävs ett lägre värde för D-dimer för att misstänkas ha DVT. Denna flytt resulterar i **färre falskt negativa, men som följd även fler falskt positiva**. Eftersom höga värden på D-dimer leder till ultraljudsundersökning kommer de falskt positiva snabbt att sorteras bort.

Beslutsgränsen placeras där den passar bäst. Där så många sjuka fångas in som möjligt, samtidigt som de särskiljs från de friska. En för låg beslutsgräns kommer göra testet intetsärande, då för många kommer att få positiva svar → inte särskilt hälsoekonomiskt.

För att hitta den optimala beslutsgränsen

Den optimala beslutsgränsen tas fram med hänsyn till **hur farlig sjukdomen är** samt **hur vanlig sjukdomen är**. Är det av vikt för detta test att ha en hög sensitivitet eller en hög specificitet.

- **Låg beslutsgräns** → Stor andel av alla sjuka hittas (= hög sensitivitet), samtidigt som många av de friska blir falskt positiva (= låg specificitet).
- **Hög beslutsgräns** → Långt ifrån alla sjuka hittas (= låg sensitivitet), men sannolikheten att de som får positivt testresultat faktiskt är sjuka är hög (= hög specificitet).

OBS! Desto längre det är mellan pucklarna i bilden ovan, desto lättare är det att ha hög sensitivitet och specificitet (läs nedan).

UTVÄRDERING AV ETT TEST

För att kunna utvärdera ett nytt test måste man undersöka hur bra det är på att skilja sjuka från friska. Detta görs genom att jämföra med bästa tillgängliga metod om sådan finns (kallat gold standard), alternativt att följa upp patienter över tid.

HUR BRA ÄR TESTET?

Hur bra ett test är på att skilja sjukt från friskt kan uttryckas med följande värden:

- **Sensitivitet** - Andelen av de som är sjuka som får ett positivt test, beräknas som sjuka med positivt test dividerat med alla sjuka. För att beräkna sensitiviteten tar man hänsyn till antalet sjuka.

	Frisk	Sjuk
Positivt test	FP	SP
Negativt test	SN	FN

Ett test med bra sensitivitet vill vi använda när man **INTE får missa att någon är sjuk**, till priset att några blir falskt positiva. Utredningen måste alltså fortsätta för att fastslå något.

- **Specificitet** - Andelen friska som har negativt test (friskförklaras), beräknas som friska med negativt test dividerat med alla friska. .
Ett test med bra specificitet vill vi använda när vi vill **FASTSLÅ** att patienten faktiskt är sjuk, och kan med hög specificitet utesluta alla sant negativa (friska) → friskförklara den som är frisk.

Sensitivitet och *specificitet* tittar på ett test utifrån friskt och sjukt. Båda dessa värden ska alltså vara så höga som möjligt, eftersom de kommer ge en kvot som beskriver hur många av patienterna som fått ett korrekt testresultat.

- **Positivt prediktivt värde** - Andelen sjuka med positivt test, beräknas som sjuka med positivt test dividerat med alla positiva test.
- **Negativt prediktivt värde** - Andelen friska med negativt test, beräknas som friska med negativt test dividerat med alla negativa test.

	Frisk	Sjuk	Totalt
Positivt test	950	450	1 400
Negativt test	8 550	50	8 600
Totalt	9 500	500	10 000

- Prevalens: 5 procent
- Sensitivitet: 90 procent
- Specificitet: 90 procent

- Positivt prediktivt värde: $\frac{450}{450+950} = 32,1 \%$
- Negativt prediktivt värde: $\frac{8\,550}{8\,550+50} = 99,4 \%$

Prediktiva värden tittar på positiva eller negativa testresultat. Ju högre kvoter, desto bättre. Med

andra ord betyder värdena "sannolikheten att provresultatet stämmer".

Prevalens - Andelen individer i en population som har en given sjukdom.

BASALA BEGREPP, MORFOLOGI OCH MEKANISMER

Står med om tromber, ischemi osv i CREN. I efterhand kändes det mer relevant att lägga under det temat.

ISCHEMI

Begreppet ischemi innebär att **den vaskulära perfusionen minskar**, vilket leder till att drabbade celler får brist på bland annat syre, glukos och aminosyror (fraktas med blodet). Detta leder i sin tur till att cellen inte har energi att göra sig av med metaboliter (nedbrytningsprodukter), vilka istället börjar ansamlas i cellen.

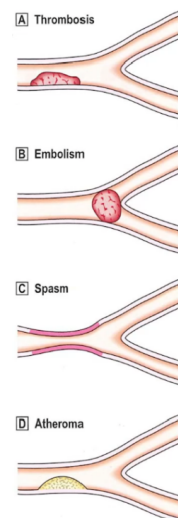
Vanligt vid ischemi är att personen i fråga börjar känna smärta, vilket är ett vanligt förstadium till hjärtinfarkt.

ORSAKER TILL ISCHEMI

Det finns fyra vanliga och fyra ovanliga orsaker till ischemi:

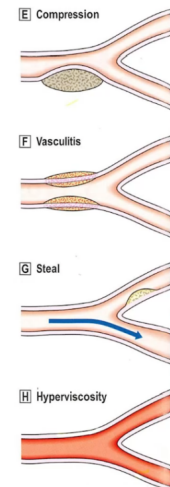
VANLIGA ORSAKER

- Trombos** - En blodpropp som orsakats av blodkoagulation i kärlet.
- Emboli** - Ett sjukdomstillstånd där en kropp (kan ex. vara en blodpropp eller luftbubbla) vandrar i blodkärlen och då blockerar dessa.
- Spasm (kärlkramp)** - När kärlväggarna trycks ihop mot varandra och därigenom får blodkärlet att smalna av. Förhindrar tillräcklig mängd blod att komma fram.
- Atheroma** - En onormal ackumulering av material på insidan av ett blodkärl. Ateroskleros (åderförkalkning är ett exempel på detta).



OVANLIGA ORSAKER

- e. **Kompression** - Uppstår när en persons blodkärl utsätts för onormalt tryck, vilket minimerar blodkärllets storlek och därmed förhindrar tillräcklig mängd blod att komma fram.
- f. **Vaskulit** - Inflammation i blodkärl.
- g. **Steal syndrome** - Blodet väljer en annan väg.
- h. **Hyperviskositet** - När blodet har någon komponent (ex. blodsjukdom) som gör att det flödar långsamt.



SMÄRTA VID ISCHEMI

Vid ischemi uppstår anaerob metabolism vilket ger upphov till frisläppandet av laktat, H⁺ samt K⁺ som kemoreceptorer känner av och signalerar om smärta. Även histamin, proteolytiska enzymer ansamlas vilket också bidrar till smärta.

DIAGNOSTIK AV ISCHEMI

- Man kan mäta koncentrationen av olika proteiner, exempelvis troponin (friska hjärtmuskelceller läcker inte) vid hjärtischemi
- Man kan använda sig av funktionell diagnostik, såsom EKG
- Inspektion

VÄVNADSFÖRÄNDRINGAR EFTER ISCHEMI

Hur vävnaden påverkas beror av flera faktorer:

- **Typ av vävnad** - Olika vävnader har olika förmåga att kunna regenerera. Neuron och njurtubuli klarar i regel inte en långvarig ischemi (neuron kan i princip inte regenerera alls). En vävnad som bindväv däremot kan överleva ischemi under en längre tid.
- **Duration** - Hur länge ischemin håller i sig kommer styra dess påverkan på vävnaden.
- **Reperfusion** - Denna kan vara antingen *spontan*, alltså att tromben släpper i kärlet och förs iväg. Då kan denna del av kroppen fungera igen. Den kan också vara *inducerad*, vilket innebär att man använder olika läkemedel eller liknande för att få tillbaka flödet.

HYPOXI

Begreppet hypoxi definierar många som "syrebrist", vilket är sant men något ospecifikt. Bättre förklaringar är **reducerat blodflöde** och **nedsatt andning**, vilket sedan leder till syrebrist.

- **Generell hypoxi** - En hypoxi som drabbat hela kroppen
- **Lokal hypoxi** - Drabbar endast ett organ eller enstaka delar av kroppen.

- **Anoxi** - Betyder ordagrant "helt" avsaknad av syre, men används även vid väldigt låga mängder syre. Detta begrepp kan jämföras med **cyanos**, vilket är den blåaktiga färgen huden och slemhinnor antar vid syrebrist.

HYPOXEMI

Vid sänkta värden syrgas i blodet används begreppet hypoxemi. Normalt brukar syrgasmättnaden ligga på >94%.

SILENT HYPOXIA

Tyst hypoxi innebär hypoxi som INTE sammanfaller med andfåddhet, vilket är fallet för COVID-19 patienter. Trots deras sjunkande syrgasmättnad i blodet börjar de inte andas frekvent.

INFARKT

En infarkt är ett område med ischemisk nekros orsakat av ocklusion (tilltäppning) av blodförsörjningen till den skadade vävnaden. Arteriell trombos eller embolism är orsaken bakom de allra flesta infarkter. Infarkter klassificeras utifrån deras färg, som speglar mängden blödning. Infarkter kan antingen vara röda (hemorragiska) eller bleka (anemiska).

RÖDA (HEMORRAGISKA) INFARKTER

Dessa sorters infarkter orsakas i huvudsak av **venocklusion**, där röda blodkropparna sedan antror det infarkterade området och blir kvar. Alternativt kan dessa typer av infarkter uppkomma av en **arteriell ocklusion** i organ med antingen kollateralartärer eller med dubbel blodförsörjning. I båda lägen ansamlas röda blodkroppar i det infarkterade området (inte bara i kärlen), till följd av ökat hydrostatiskt tryck och skadat endotel. När de extravaserade erytrocyterna bryts ned av makrofager kommer det överblivna järnet från hemgrupperna att bilda hemosiderin, vilket i stora mängder ger en brunaktig avlagring.

EXEMPEL PÅ HEMORRAGISK INFARKT

Vid ventrombos får man först en dilatation av kollateralvener, vilket är ett sätt att kompensera för det ökade venösa trycket. Ventromboser sker dock oftast i små vener, vilket leder till att det ofta bildas små varicer/åderbräck (när trycket i kärlen ökar utvidgas blodådrorna och blir mer synliga). Vid dilatation även av små venoler kan varicösa sårbildningar bildas, vilket kan skapa bland annat cyanos eller blödningar.

VILKA ORGAN ÄR VANLIGAST DRABBADE?

- Lunga
- Hjärna
- Tarm

BLEKA (ANEMISKA) INFARKTER

Dessa infarkter orsakas vanligtvis av arteriella ocklusioner och hittas oftast i fasta organ med en cirkulation bestående av ändartärer. Sker vanligtvis i hjärta, njure eller mjälte. Dessa organ har en enkel blodförsörjning, vilket innebär att deras blodkärl saknar anastomoser med andra stora kärl. Vid ocklusion i ett sådant kärl är risken stor för ischemisk nekros (koagulationsnekros) i organet, med andra ord en infarkt. Dessa infarkter ser makroskopiskt konformade ut, med spetsen pekandes mot den artär där ocklusionen uppstått.

ANEMISK INFARKT – MAKROSKOPISK (NJURE)

Vid en ocklusion av en ändartär går det drabbade området nedanstående steg till mötes, vilket kallas för en anemisk infarkt. Blodflödet avstannar i den drabbade vävnaden, vilket skapar anoxi. När detta händer har cellerna nått "point of no return" och nekros induceras.

Under de första 12 timmarna

Det drabbade området bleknar och endast specialfärgningar kan mikroskopiskt påvisa skadan.

Efter 24 timmar

I det skadade området är kollateralkärlen dilaterade, till följd av det höga trycket då blod inte kan flöda genom det ockluderade kärlet. Detta höga trycket i kollateralkärlen skapar ett utträde av **transudat** → området sväller. Det blod som finns kvar i kärlen i det drabbade området läcker ut genom det skadade endotelet → det svullna området blir även mörkt och blodfärgat.

Efter 36 timmar

Koagulationsnekros induceras. Makroskopiskt blir det nekrotiska området blekare, vilket beror på att nedbrytningen av erytrocyterna påbörjats. Blodkropparnas sönderdelning skapar ett osmotiskt tryck i vävnaden, vilket gör att kvarvarande blod pressas mot kanterna av det skadade området. Ett smalt blodigt område omger då infarktområdet, kallat en **hemorragisk randzon**.

Efter 72 timmar

Vid detta läge är erytrocyterna helt nedbrutna och svullnaden avtar. Leukocyter och makrofager börjar infiltrera det nekrotiska området för att bryta ned den skadade vävnaden.

Efter 1-4 veckor

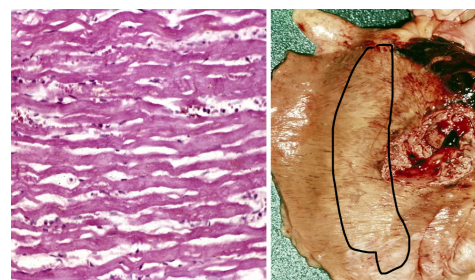
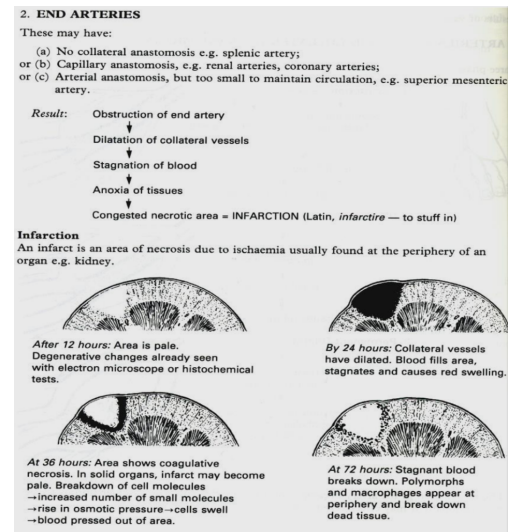
Infarktområdet börjar makroskopiskt bli rosaaktigt. Mikroskopiskt börjar inflammatoriska celler att övergå till **granulationsvävnad** (kärilbindeväv med immunceller som bildas på den läkande ytan på sår eller inflammerad vävnad).

4-6 veckor

Fast och vitaktig ärrvävnad syns makroskopiskt. Mikroskopiskt har vi fibrosbildning, vilket innebär den läkningsprocess där det bildas fibrös vävnad i ett organ som utsatts för inflammation eller skada.

ANEMISK INFARKT – MIKROSKOPISK OCH MIKROSKOPISKT (HJÄRTA)

Under de två första dygnet efter en hjärtinfarkt kan mikroskopiska skillnader urskiljas. Vågigheter och ökat mellanrum mellan hjärtfibrerna kan observeras, tillsammans med en avsaknad av cellkärnor. Hjärtmuskelfibrer är i normalfallet väldigt tätt packade. Makroskopiskt börjar vävnaden bli ljusgul = tecken på en början av nekros.



Under det tredje till det nionde dygnet kan en förstoring av hjärtmuskelfibrerna observeras, samt att en inflammation dragit igång (vävnad fylld med lymfocyter).

Efter ett par månader kommer infarktområdet synas som ett vitaktigt ärr, vilket personen i fråga kommer få leva med livet ut. Vid en hjärtinfarkt förtunnas hjärtmuskelväggen vid det drabbade området, vilket senare i livet kan leda till ruptur av hjärtmuskelväggen.



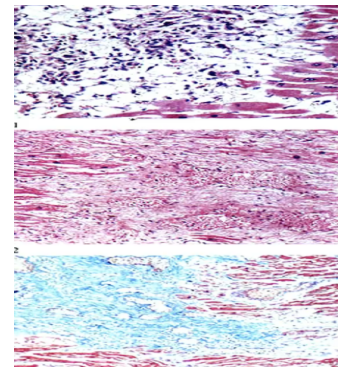
HISTOLOGI

Första 6h: Ser ingenting. Med elektronmikroskop hade man kunnat se svullna mitokondrier.

2 första dygnet: Ser större mellanrum mellan muskelfibrerna. Ingen cellkärna tyder på nekros.

3–9 dygnet: Kraftigare inflammation ses genom lymfocyter framförallt vid kanterna på infarkten. Ses bara smärre rester av hjärtmuskelfibrer.

10 dygnet och framåt: fibros kan ses som blå struktur. Makrofager tar bort dödvävnad.



GANGRÄN/KALLBRAND

Gangrän är en följd av celldöd som orsakats av nedsatt eller upphörd blodtillförsel. Det finns två olika typer av gangrän:

TORRT GANGRÄN

Torrt gangrän är en följd av **koagulationsnekros** som uppstår i en ischemisk vävnad, vilket innebär att gangrän inte är en sjukdom i sig utan enbart symptomen som uppstår. Begreppet "torrt gangrän" används endast på tal om extremiteter eller magen, då samma typ av nekros på andra ställen i kroppen kallas för infarkt. Det finns flera olika faktorer som kan orsaka torrt gangrän; där de vanligaste faktorerna är diabetes, ateroskleros eller rökning. Torrt gangrän orsakas i huvudsak av kronisk ischemi, vilket mest vanligt drabbar tår, underben och fingrar. Skulle inte det torra gangrännet behandlas i tid kan det utvecklas till ett fuktigt gangrän, vilket är betydligt farligare.

FUKTIGT GANGRÄN

Fuktigt gangrän kallas det när en infektion bryter ut i den döda/döende vävnaden, vilket är farligt då bakterier bland annat kan orsaka sepsis (blodförgiftning). Vanliga orsaker till fuktigt gangrän är diabetes (→ högt blodsocker) eller liggsår, vilket båda leder till en snabb bakterietillväxt. Fuktigt gangrän uppstår vanligen i mun, tarm, lunga eller cervix.

Tarmen utsätts dagligen för stora mängder mikrober, som vid en skada i tarmen snabbt kan orsaka en bakterieinfektion → fuktigt gangrän. Fuktigt gangrän ger ett svart och sotigt utseende på vävnaden, vilket är till följd av att hemoglobinet bryts ned och blir hydrogensulfid, som sedan förändras av bakterier. Hydrogensulfid + bakterier leder till svart vävnad.

SYSTEMISK REAKTION PÅ CELL- OCH VÄVNADSSKADA

Cell- och vävnadsskada kan orsakas av många olika faktorer; såsom infektion, ischemi, maligna tumörer, trauma eller autoimmuna tillstånd. Vid en systemisk skada uppkommer även olika typer av symtom.

SYM TOM VID AKUT SKADA

- Lokal smärta**

Rubor	Rodnad
Dolor	Smärta
Color	Värmeökning
Tumor	Svullnad
Functio laesa	Avsaknad av struktur

- Feber** - Vid inflammation utsöndras cytokiner vilka påverkar kroppens termostat, reglerat av hypothalamus. Feber kan även induceras vid aseptisk inflammation (alltså ingen inflammation) samt vid vävnadssönderfall orsakade av tumörer eller infarkter.

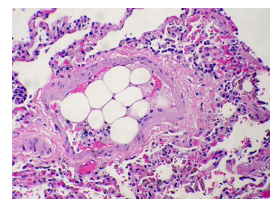
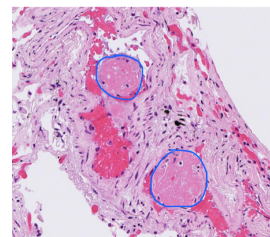
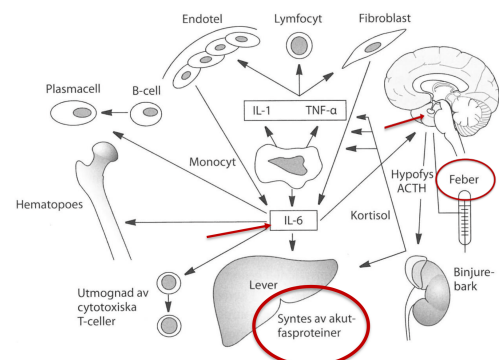
- Syntes av akutfasproteiner**

- Sepsis** - Livshotande tillstånd vid svar på en infektion, som kan leda till organdysfunktion. Hjärtfrekvensen stiger till >90 slag/min, andningsfrekvensen till >20 andetag/min och temperaturen till >38 grader (alternativt <36 grader).

- DIC (disseminerad intravasal koagulation)** - En patologisk process där blodet okontrollerat börjar koagulera i kärlen. Vid en större skada kan detta induceras i organ. Bilden till höger visar två DIC i lungvävnaden. Den rosa färgen tyder på fibrin = tromb.

- ARDS (acute respiratory distress syndrome)** - Ett tillstånd ofta associerat med inflammation i lungan → svårigheter med att andas.

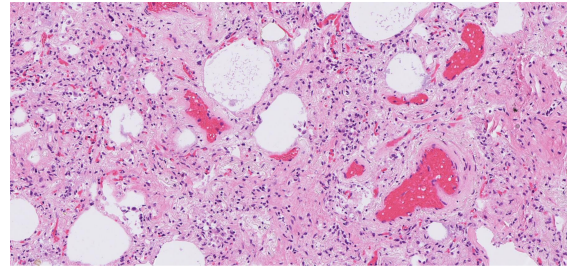
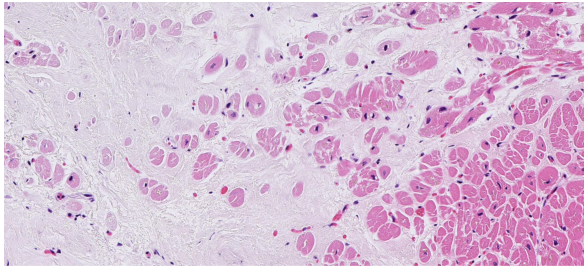
- Fettemboli** - Klassiskt symptom vid perifer skada. Exempelvis vid en fraktur tränger sig fettceller från benmärgen in i blodkärlen och aggregerar. Försvårar blodflödet. Bilden visar en fettemboli i kapillär i lungan.



SYM TOM VID KRONISK SKADA

- Smärta
- Funktionsnedsättning
- Bestående organskada

Nedan syns två stycken bilder på vävnader som utsatts för kronisk skada. **Den vänstra bilden** visar ett "ärsläkt" hjärta, där lucker bindväv syns mellan de inte drabbade myokardiocyterna. **Den högra bilden** visar en lungfibros, där endast ett fåtal alveoler finns kvar. Mellan dessa syns en tydlig fibrös vävnad som bildats för att "läka" vävnaden.



SYMPTOM VID MALIGN TUMÖR

- **Feber**
- **Nattliga svettningar**
- **Viktnedgång**
- **Trötthet**
- **Smärta**
- **Hyperkalcemi** - Ökade kalciumnivåer i blodet, vilket beror av paratyreoideahormon (PTH) samt osteolys. Vanligaste symptomet vid hyperkalcemi är "nedsatt allmäntillstånd".
- **Paraneoplastiskt syndrom (PS)** - Paramalignt syndrom (som det också kallas) är en konsekvens av cancer som inte beror på lokal tumörväxt utan medieras av hormoner, cytokiner eller immunologisk reaktion. Ibland är PS det tidigaste symptomet på cancer. Vissa tumörer kan alltså bestå av celler som skapar sin egna produktion av hormoner såsom ADH, ACTH och PTH → stör den kroppsliga homeostasen.

Syndrom	Vävnad som skadas	Vanligaste symtom	Vanligaste diagnos
Lambert Eaton	Perifera nerver	Muskelsvaghet	Lungcancer
Limbisk encefalit	Hjärna (temporal)	Demens	Lymfom, ovarialcancer
Cerebellär degeneration	Lillhjärnan	Balansrubning, ataxi	Lymfom, ovarialcancer
Anti NMDA-encefalit	Hjärna	"Encefalit-bild"	Teratom i ovarie
Opsc-/myoklonus/ataxi	Hjärna	Nystagmus	Neuroblastom
Dermatomyositis	Hud	Sårbildning i huden	Lungcancer, bröstcancer
Glomerulonefrit	Njure	Hypertoni, ödem p.g. a albuminuri	Lymfom
Hemolytisk anemi	Erythrocyter	Trötthet p.g. a anemi	KLL, lymfom
Autoimmun trombocytopeni	Trombocyter	Blödningar	KLL, lymfom
Depigmentering	Melanocyter	Känslig hud	Malignt melanom

Syndrom	Hormon	Vanligaste symtom	Vanligaste diagnos
Cushings	ACTH-liknande substans	Som vid kortisonöverskott	Småcellig lungcancer
SIADH	ADH	Som vid hyponatremi	Småcellig lungcancer
Hyperkalcemi	PTH-liknande	Nedsatt allmäntillstånd	Bröst-, lung-njurcancer
Carcinoid	Serotonin, bradykinin	Diarré	Carcinoid tarm/lunga
Hypoglykemi	Insulinliknande substans	Medvetslöshet	Sarkom
Hypereosinofili	Substanter från granula i eosinofiler (bl a ECP)	Klåda	Lymfom, leukemi
Acanthosis nigricans	Flera olika bl a insulinliknande substanser	Pigmentering fr a axiller och ljumskar	Colorectal cancer
Leser-Trelat	Cytokiner	Multipla senila keratoser	Flera cancerformer
Sweet's	Granulocyt-stimulerande faktor (G-CSF)	Hudutslag	Leukemi
Polycytemi	Erytropoetin	Yrsel, trombos	Njurcancer

PATOLOGISK HISTOLOGI

Forstå principerna för vanliga laborativa metoder som används vid studier av cancersjukdom (respirationssystemet, njurarna och urinvägarna) (Känns mer CREN än GEN)

BEGREPP

- **Neoplasi** - autonom, **irreversibel**, tumörartad nytillväxt av celler utan fysiologisk funktion. En neoplasi är således en grupp av celler som förlorat sin normala tillväxtreglering. Orsaken kan vara en mutation i arvmassan orsakad av virusinfektion, elektromagnetisk strålning med kort våglängd eller kemikalier m.m.

(Gustav) Abnorm cellförökning som inte betingas av ökat behov av ett visst cellslag, leder till uppkomst av tumör (neoplasm) som antingen är godartad (benign) eller elakartad (malign)

- **Benigna** – godartad neoplasi
- **Maligna** – elakartad neoplasi
- **Atypi** -något som inte är typiskt utan avvikande.
- **Stroma** – celler som finns i alla typer av vävnader
- **Parenchym** – celler som är specifika för just den vävnaden vi tittar på.

KOMMER MER UNDER "ÖVERSIKT DESKRIPTIV TUMÖRPATOLOGI

DIAGNOSTISKA METODER

HISTOPATOLOGI → PAD

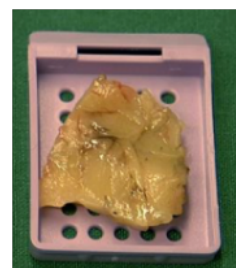
Undersökning av en sammanhängande vävnadsbit (ex histologiska bilder). Detta ger en **säkrare diagnostik** och är **bra för andra diagnoser** än neoplasier → ger oss vilket typ av tumör, gradering samt storlek. Innebär dock **ett större ingrepp**. Histopatologi kan även kallas PAD och står för **patologisk-anatomisk-diagnostik**.

För att kunna titta på histopatologiska preparat använder man sig av biopsier eller operationsprep:

- **Biopsier** – använder en nål som har ett hålrum större än 0.8mm (mellannål) som kan användas i exempelvis bröst, lever eller lymfa. Man kan även göra stansbiopsier i huden eller tångbiopsier i mag tarmkanalen.
- **Operationsprep** – görs i samband med en behandlande procedur där man får ut större vävnadsbitar, såsom uterus, tarm eller hela lymfkörtlar.

LABORATORIETEKNIK

1. **Fixering** – mha av formalin. Fixerar ungefär en mm i timmen.
2. **Beskärning** – Snittet ses på bilden. Oftast 2x2 cm. Viktigt att restriktionskanten är med. Ligger i ett kassett.
3. **Dehydrering med alkohol**
4. **Inbäddning** i paraffin



5. **Snittning** – ungefär 4-5 mikrometer tjocka
6. **Färgning** samt montering av täckglas
7. **Mikroskopisk bedömning** som görs av specialister i klinisk patologi

FÄRGNING

Den vanligaste färgningen är mha av **hematoxylin och eosin**. Eosin är ett surt ämne som färgar basiska strukturer rött eller i en skär färg. Cytoplasma proteiner är till största del basiska och därmed är cytoplasman oftast rödaktigt rosa. Hematoxylin är å andra sidan basiskt och färgar sura strukturer lila-blå vilket medför att cellkärnor, ribosomer och ER blir blåaktiga pga att de innehåller ribonukleinsyror (RNA).

Dessutom finns det specialfärgningar för exempelvis slem (ABP/PAS/musicarmin) och melanin (masson).

CYTOLOGI

Nyttjar celler som är tagna ur sitt sammanhang och tittar på enskilda celler. Denna process är **inte lika tidskrävande** utan kan snabbt genomföras. Dock **sämrre för icke-neoplas-diagnostik** som exempelvis inflammatoriska diagnoser. Fördelen med cytologi är att det är ett mindre ingrepp. Däremot är det svårare att avgöra en korrekt diagnos. Kan vara bra att ha koll på för och nackdelar med cytologi vs PAD.

För att titta på cytologiska prepp använder man sig av finnål eller exfoliativ cytologi

- **Aspirationscytologi (Finnålspunktioner)** – innebär att man tar ut något inifrån en struktur. Fin-nålen är mindre än 0.8mm i diameter och kan användas i lungan, subcutis, lymfkörtlar etc.
- **Exfoliativ cytologi** – är en undergrupp som baserar på att man sköljer bort något från en yta och provet tas därmed från en vätska. Dessa prover kan komma från urin som innehåller celler från urinblåsan, eller ascites som kommer från bukhålan som innehåller mesotelceller.

FÄRGNING

- Giemsa
- Hxt-Eos – samma som för histoprep
- PAP – vilket är den vanligaste

EXEMPEL

BILD 1. Histopatologiskt prov där vi ser en sammanhängande vävnad från en lymfkörtel. Det atypiska i preppet är en körtelstruktur som ej finns i lymfknutor. Detta är en mikrometastas som urspringer ur bröstet.

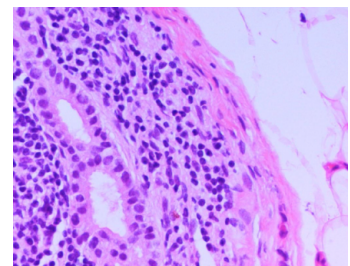
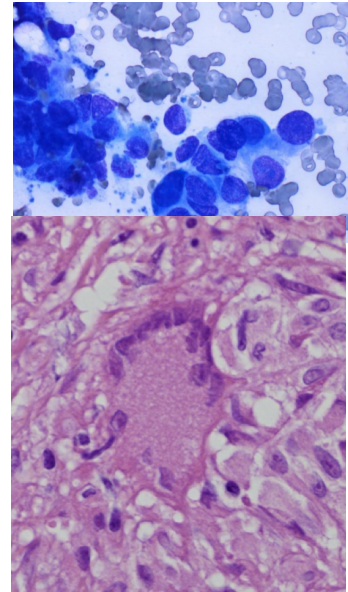


BILD 2. Cytologiskt prov från lungan. Vi ser erythrocyter utan kärna i bakgrunden. Identifierar avvikande celler som ses som mörkblåa på bilden. Stor storleksvariation. Är maligna tumörceller.

Generella saker att söka efter vid ett patologiskt prov:

Termer kan vara klokt att ha koll på då de dyker upp på tentor titt som tätt

- **Kärnatypi** - ökad kärnstorlek, hyperkromasi → väldigt mörka kärnor
- **Pleomorfism** - variation i cellernas form och storlek
- Stökig arkitektur på cellerna - dysplasi
- Leukocyter, små mörkblåa "prickar"
- Jätteceller med flertalet kärnor i sig (se **BILD 3**)
- Celler utan cilier i preparat som bör ha respiratoriskt epitel
- Emfysem kan visa sig som "förstorade" alveoler
- Kan även observera storleksskillnad mellan körtlar i exempelvis prostatan
- Avsaknad av myoepitel runt körtlar tyder på malignitet. Myoepitel är ett enkelskiktat skivepitel (muskelepitel med kontraherande egenskaper).
- Finner körtlar vid nerver
- Ingen bindväv mellan körtlar (icke reglerat)



Lär övergripande den normala histologin och försök se avvikelser eller vad som inte är normalt, men spekulera inte för mycket i vad det kan vara...

TUMÖRPATOLOGI

Patologi är läran om sjukdomar samt hur de diagnostiseras.

En patolog är en person med stor betydelse vid fastställning av en cancerdiagnos. En patologisk bedömning är av stor vikt för att bland annat:

- Förstå prognosen
- Välja rätt behandling
- Öka förståelsen om tumörer

För att patologen med säkerhet ska kunna morfologiskt diagnostisera preparat kräver detta att:

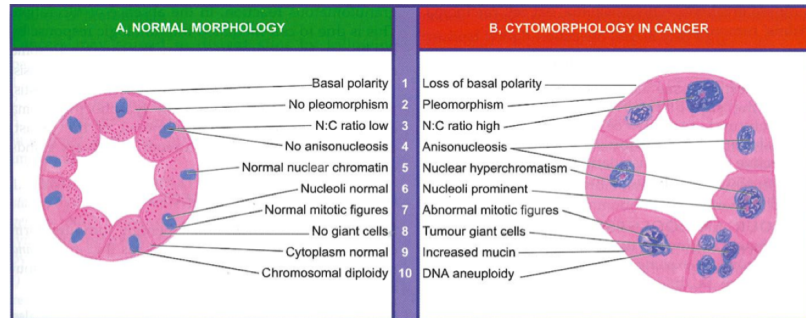
- **Relevanta kliniska uppgifter** - Det läkaren skriver i remissen stämmer överens med vad som ska undersökas. Vad som misstänks och om något syns.
- **Provets representativitet** - Viktigt att provet är taget från rätt ställe, så att det vävnadsprovet speglar det man undersöker.
- **Provkvalitet** - Formalin gör att provet bevaras (inte ruttnar) → alla processer stannar av.

- **Morfologisk teknik och diagnostisk skicklighet** - Hur bra är patologen på att både färga och diagnostisera.
- **Kliniskt-patologiskt samarbete** - Alltid viktigt med samarbete mellan vårdens alla yrkesgrupper.

ATYPI

Vid studerande av **cellatypi**, är det oftast **kärnatypi** man letar efter. Det man då kollar på är:

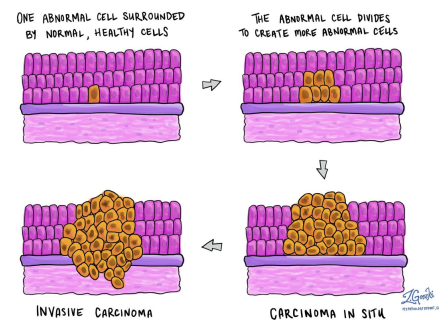
- **Pleomorfism** - Pleomorfa kärnor har många olika former
- **Hyperkromasi** - Hyperkroma kärnor tenderar till att vara väldigt mörka
- **Kärnförstoring** - Detta studeras bäst genom att jämföra relationen mellan kärnan och cytoplasman. En större kärna i förhållande till cytoplasman tyder ofta på malignitet
- **Anisonukleos** - Olika storlek på kärnan
- **Aneuploidi** - Icke normal genetisk uppsättning (onormal kromosomuppsättning), vilket DOCK inte syns i mikroskop



Cellulär atypi kan graderas i skalan; lätt, måttlig och grav. Grav är ofta synonymt med malignitet.

DYSPLASI

Begreppet dysplasi betyder **oordnad växt** och kan enbart ses histologiskt. Precis som kärnatypi tyder på malignitet, gör även störd cellarkitektur det (hur cellerna ordnar sig i vävnaden utifrån varandra). Om arkitekturen är störd i hela epitelets tjocklek, men ännu fortfarande avgränsad av basalmembranet talar man om **carcinoma in situ**. Detta innebär att en malign tumör håller på att bildas, men ännu inte invaderat in under av basalmembranet. In situ är alltså ett förstadium till ett invasivt carcinom.



TUMÖRER

NEOPLASI

Uppkomst av ny växt. I detta stadiet har man ännu inte tagit ställning till om en tumör är malign eller benign. Det är heller inte utrett vilken sorts celler som utgör tumören. Tumören är irreversibel utan fysiologiskt funktion med förlorad normal tillväxtreglering.

MALIGNA TUMÖRER

Progressiv infiltration och destruktion av omgivande vävnad (trycker undan vävnad runt omkring) som inte respekterar anatomiska avgränsningar.

Alla tumörer benämns utifrån den vävnad de ursprungligen kommer ifrån.

- **Mesenkymala maligna tumörer** kallas för sarkom. Exempel på dessa är fibrosarkom (från bindväv), kondrosarkom (från brosk) och osteosarkom (från ben).
- **Epiteliala maligna tumörer** kallas för carcinom. De vanligaste är adenocarcinom och skivepitelcarcinom
- **Hematopoetiska maligna tumörer** kallas antingen leukemi eller lymfom.
- **Maligna tumörer i nervsystemet** kallas för neuroektodermala tumörer.

OBS! Cancer är INTE ett samlingsnamn för alla maligna tumörer, utan ett samlingsnamn för maligna tumörer i carcinomgruppen. Vid remisskrivning används därför "patienten har haft en tidigare malignitet" istället för "patienten har tidigare haft cancer".

BENIGNA TUMÖRER

Växer sammanhängande och avgränsas av basalmembran. Denna expansion av celler är även ofta omgiven av en rand av ihoppressad bindväv - kapsel.

Benigna tumörer namnges vanligen genom att lägga till -om till ursprungscellen.

- **Mesenkymala benigna tumörer** - Fibrom, chondrom, osteom.
- **Epiteliala benigna tumörer** - Adenom, cystadenom, papillom.

Teratom är en uppkomst från totipotenta celler (från fler än ett primitivt grodblad). Kan därigenom bestå av en blandning av exempelvis hår och tänder.

BENIGN vs. MALIGN

KARAKTÄRISTIKA	BENIGN	MALIGN
Differentiering	Väl differentierad och med arkitektur ofta typisk för ursprungsvävnaden.	Differentieringsförlust och ofta atypisk arkitektur.
Växthastighet	Vanligen progressiv och långsam. Mitoser är sällsynta och normala.	Varierande, från långsam till snabb. Mitoser förekommer rikligt och är abnorma.
Lokal invasion	Vanligen en sammanhängande, expanderande och välavgränsad massa som inte infiltrerar omgivande vävnad.	Lokalt invasiv som infiltrerar omgivande vävnad.
Metastaser	Frånvarande	Förekommer! Desto större och mer odifferentierad primärtumören är, desto större risk.

EPITELIALA TUMÖRER - MALIGNA

Carcinom svarar för över 80% av alla maligna dödsorsaker och kan uppkomma från ALLA tre primitiva groddblad.

- Endoderm - Lungepitel, lever, pankreas och GI
- Ektoderm - Hud
- Mesoderm - Ovarier

Skivepitelcarcinom bildas ofta från de celler som normalt bildar det skyddande cellagret och är därmed ofta keratiniserade. **Adenocarcinom** kommer i huvudsak från körtelepitlet, som är specialiserat på att utsöndra ämnen. Dessa sprids oftast genom **lymfogen metastasering** och följer normal anatomi.

MESENKYMALA TUMÖRER - MALIGNA

Maligna tumörer av mesodermala ursprung kallas för sarkom, och finns av många olika typer. Mesenkymala tumörer sprids primärt genom **hematogen metastasering** och fastnar därmed oftast i den närmsta kapillärbädden. Detta resulterar i att många metastaser hamnar i lungan eller levern.

osteosarcoma
liposarcoma
leiomyosarcoma
rhabdomyosarcoma
malignant fibrous histiocytoma
fibrosarcoma
synovial sarcoma
angiosarcoma
chondrosarcoma

NERVSYSTEMETS TUMÖRER - MALIGNA

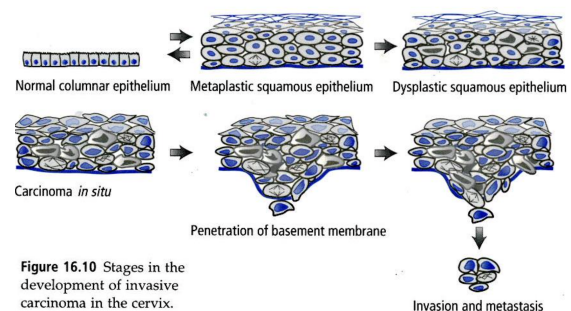
Dessa tumörer har neuroektodermala ursprung och kan bland annat bilda; gliom, astrocytom, oligodendrogliom, ependymom. Dessa tumörer **skiljer sig** från andra neoplastiska processer:

- Svårare gränsdragning mellan benign och malign
- Svåråtkomliga
- Lokalisationen kan ge svåra komplikationer
- Annorlunda spridningsvägar

TUMÖRPROGRESSION

Det finns ett generellt förlopp för hur tumörer progressivt utvecklas till maligna tumörer. Detta stämmer inte in på alla typer av tumörer, utan är **ett generellt förlopp**. Exemplet nedan gäller för cervixcancer.

1. **Normal växt** - Skiv- och körtelepitel möts i det som kallas för transformationszonen.
2. **Hyperplasi** - Vävnaden förstoras genom ett ökat antal celler (bland annat HPV-viruset kan orsaka hyperplasi).
3. **Metaplasi** - Cellerna börjar differentieras annorlunda för att ge bättre skyddande egenskaper (körtelepitel → skivepitel, så kallat skivepitelmetaplasi).
4. **Dysplasi** - Arkitekturer störs och växten blir oordnad.

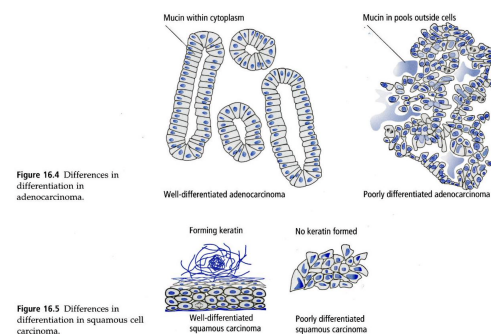


5. **In situ carcinom** - Tumören sträcker sig genom alla cellager, men är fortfarande begränsat av basalmembranet.
6. **Invasiv växt** - Bryter igenom basalmembranet.
7. **Metastas** - Sprider sig till andra vävnader i kroppen.

OBS! Steg 3, metaplasi, uppkommer endast vid vissa typer av tumörbildningar. Vid bildandet av ett exempelvis skivepitelcarcinom förändras inte cellerna deras celltyp.

DIFFERENTIERING

Vid studerandet av en neoplas jämförs de neoplastiska och ursprungliga cellernas växtmönster. Benigna tumörer tenderar att vara väl differentierade (lik ursprungscellerna), medan maligna tumörer kan bestå av högt, medelhögt, lågt eller anaplastiskt differentierade celler. Anaplasi betyder odifferentierad = liknar ingenting annat. I bilden till höger syns skillnaden i differentiering mellan två olika carcinom.



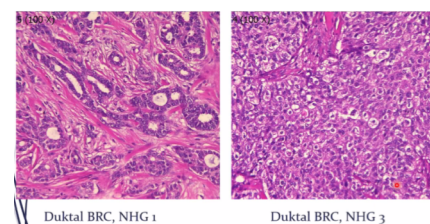
GRADERING

Tumörgradering grundar sig på morfologiskt tumörutseende så som grad av atypi, pleomorfism etc för att göra en bedömning om hur differentierad tumörcellerna är.

Högt → Medelhögt → Lågt differentierade

Sen gäller det att hålla tungan rätt i mun:

- En **lågt** differentierad tumör = mer aggressiv = **höggradig** (farligare)
- En **högt** differentierad tumör = mindre aggressiv = **låggradig** (snällare)

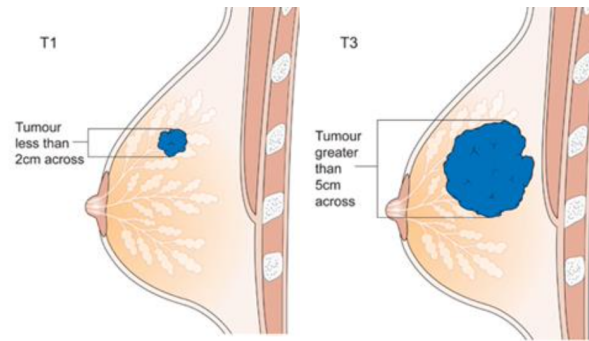


Det finns flera olika typer av graderingssystem. För tumörer i bröstet används NHG (Nottingham histologic grade). Vänster bild är högt differentierad (har körtelstrukturer) → låggradig, medan höger bild är lågt differentierad (liknar inga normala bröstceller) → höggradig.

STADIUM

Stadieindelning är ytterligare ett viktigt system att känna till, klassas i **TNM** och grundar sig i **hur stor tumören är, hur djupt den växer och relaterar till sin omgivning..**

- T = Tumör (lokal utbredning och storlek)
- N = Node/körtelstadium (lymfkörtelmetastas)
- M = Metastasstadium (fjärrmetastas)



Exempel på mått kan vara T2 N1 M0. Tumören är större än 2 cm, men mindre än 5 cm (T2). Det finns mer än en lymfkörtelmetastas (N1), men inga fjärrmetastaser (M0). Om man ej kan bedöma T, N eller M anges det med ett X bakom. Ex. MX om man ej gjort vidare undersökningar efter metastaser.

TUMÖRMARKÖRER

Prognostisk information - Hur tror vi det kommer gå för en viss patient, med hänsyn till biomarkörer som uppvisas hos tidigare patienter med samma symptom. Om en patient mycket ER-receptorer vid en bröstcancer, hur har det gått för andra patienter med höga värden här?

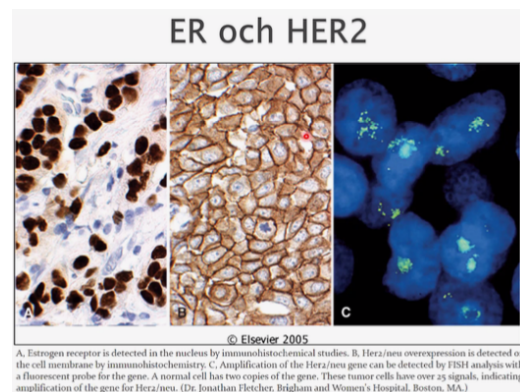
Prediktiv information - Sannolikheten att en patient svarar på en viss behandling. Tyder symptomen på att en tidigare lyckosam behandling av samma symptom även fungerar denna gång?

IMMUNHISTOKEMI, IHK

Immunhistokemi går ut på att man **detekterar och lokaliserar proteiner** med hjälp av fluorescerande antikroppar som binder till specifika antigen i tumören. Metoden används ofta inom diagnostisering av cancer. Genom att undersöka proteinerna, kan man exempelvis förutse hur personen kommer att svara på vissa läkemedel. Därmed kan man få ut viktig **prognostisk** och **prediktiv information**. Genom denna metod kan man även kategorisera lågt differentierade maligna tumörer, men även vägleda sannolika ursprunget för metastaser.

Östrogenreceptor (ER) - Illustrerar hur östrogenreceptorn detekteras i kärnan genom immunohistokemi. Den starka och tydliga bruna infärgningen och fluorescensen visar att ER är starkt uttryckt och ER-genen har alltså amplifieras, vilket indikerar att de neoplastiska cellernas tillväxt också drivs av östrogen. Dessa patienter kan då behandlas med en antagonist - antiöstrogen!

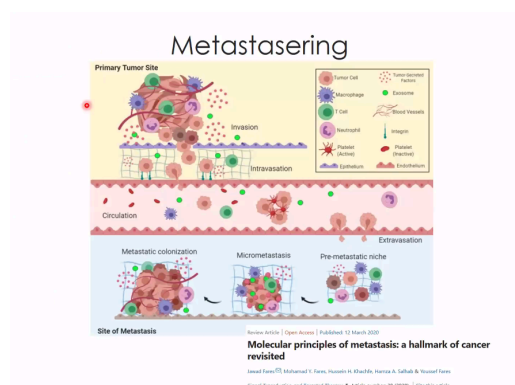
HER2 - Human epidermal growth factor receptor 2 - Är en annan bra markör vid bröstcancer. Förekomst av HER2 är kopplat till sämre prognos samtidigt som det var indikation för riktad läkemedelsbehandling med antikroppar. Förekomst av HER2 är kopplat till hög cellproliferation, och därför är prognosen sämre.



METASTASERING

Definitionen av en metastas är en tumör som har spridit sig till ett annat organ än primärtumören. Det är endast maligna tumörer som kan genomföra detta och ungefär 30% av alla patienter som blivit nydiagnostiserade med tumörer har redan metastaser. Begreppet **fjärrspridning** är synonymt med metastasering (tumören har spridit sig) och innebär en process som kallas för **Invasion och metastaskaskaden**.

OBS! Det är en lång väg för tumörceller innan de kan bilda metastaser, vilket beror på att de celler som bryter sig loss ska överleva en mängd olika processer innan den kan etablera sig någonstans.



SPRIDNINGSVÄGAR

IMPLANTATIONSMETASTASER/SEEDING

En dottertumör (metastas) sprider sig från primärtumören via kroppshåligheter. Vanligast genom peritonealhålan (bukhålan). Exempel på detta är när äggstockscancer invaderar den fria bukhålan eller från pankreas till fri bukhåla.

LYMFOGEN METASTASERING

En dottertumör (metastas) som spridit sig från primärtumören via lymfbangor → följer normal anatomi. Vid bröstcancer, vanligt med metastaser axillärt, och vid prostatacancer, vanligt med metastaser paraaortalt (vid sidan om aortan). Via lymfbangor är den vanligaste vägen för carcinom att sprida sig. Fler tumörceller tenderar att överleva i lymfkärl än i blodkärl, vilket beror på att de där utsätts för en lägre oxidativ stress.

HEMATOGEN METASTASERING

En dottertumör (metastas) som spridit sig från primärtumören via blodet. Detta är den vanligaste vägen för sarkom att sprida sig. Kärlen är ofta venösa pga att de har tunna väggar som underlättar spridningen. Neoplasmen når ett nytt organ eller stannar och växer i venen.

STEG FÖR STEG

Invasion och metastaskaskaden kan delas in i två övre steg, som i sin tur har en massa mellansteg mellan sig. Dessa övre steg är:

1. Invasion av extracellulära matrix.
2. Vaskulär spridning och homing av tumörceller

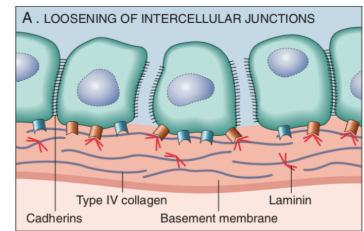
INVASION AV EXTRACELLULÄR MATRIX

Steg 1 och 2 kan tillsammans kallas för epithelial-mesenchymal-transition (EMT). Syftet med transitionen är att uppnå den pro-migratoriska fenotypen hos en cancercell som är nödvändig för metastasering. Detta sker framförallt genom aktivering av transkriptionsfaktorerna **SNAIL** och **TWIST** (mutationer föranleder att de uttrycks). SNAIL och TWIST kommer dessutom att uppreglera uttrycket av vimentin på mesenchymala celler. Därav är vimentin en bra indikation på att cellerna genomgår EMT eller är en metastas. Detta kan undersökas histologiskt genom speciella infärgningar.

Processen i av invasion av extracellulär matrix sker som följande;

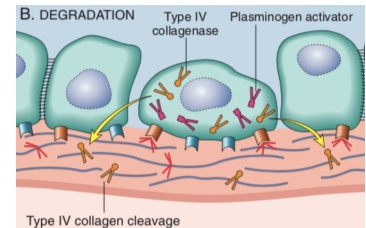
1. Förlorande av intracellulära junctions

Mellan cellerna finns normalt E-cadherin som fungerar som ett lim mellan cellerna. E-Cadherin verkar också som anti-tillväxtsignal när det är bundet tajt med intracellulärt B-cadherin som signalerar att cellerna ligger för nära varandra. *Nästan alla epitel-cancerceller har förlorat E-cadherin vilket ledet till att cellerna inte kan hålla ihop sig längre.*



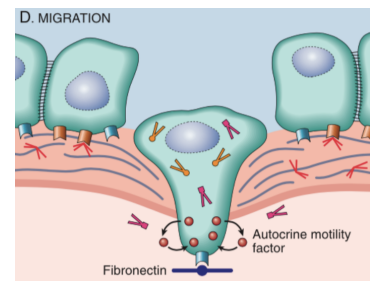
2. Nedbrytning av basalmembranet och interstitiell bindväv

Tumören frisätter själv, eller stimulerar stromaceller att frisätta proteolytiska enzymer såsom MMPs och cathepsin D. Dessa verkar på basalmembranet och den interstitiella bindväven genom att lokalt bryta ned den, i syfte att underlätta invasionen.



3. Förändring i fäste av tumörceller till ECM protein

Vanliga epitelceller har receptorer för basalmembranets laminin och kollagen. När de är bundna till varandra så förblir epitelcellerna i ett vilande och differentierat tillstånd. När de förlorar sin bindning, så kommer de istället att gå i apoptos. Cancerceller å andra sidan har kapacitet att undgå apoptos. Därav kan matrix modifieras och underlätta för invasion och metastasering.



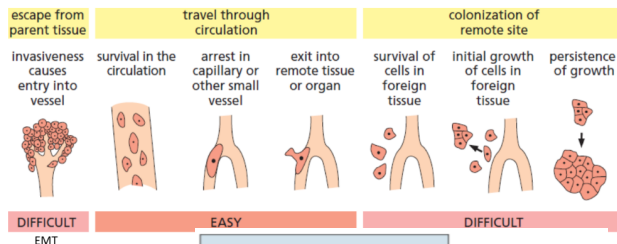
4. Lokomotion

Tumörcellerna migrerar genom nedbrutet basalmembran. Komplex process som involverar många receptorer och signalproteiner. En typ av lokomotion kan vara intravasation → förflyttning till blodet genom kontraktion av cytoskelettet.

VASKULÄR SPRIDNING OCH HOMING

Vid vaskulär (hematogen) metastasering sägs cancercellerna ha 4 hinder innan de kan metastasera;

1. **Invasion av extracellulär matrix** samt ta sig ut i cirkulationen, som vi gick igenom på föregående sida.
2. **Överleva i cirkulationen**
3. **Extravasera**
4. **Överleva i den nya miljön**

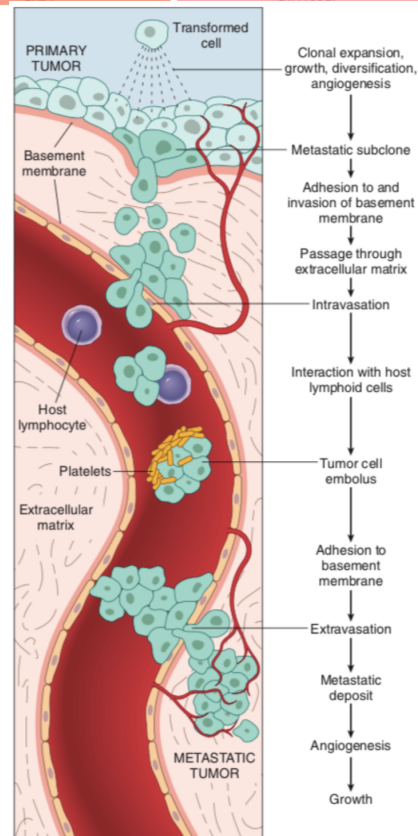


(2) I cirkulationen kommer cancercellerna vara känsliga för förstörelse av immunceller, trånga kärl som gör att de spricker eller den oxidativa miljön. För att skydda sig själva kan de binda till emboli, eller framförallt blodplättar. Observera att de flesta tumörceller dock reser själva.

(3) Vanligen ser man att cancercellerna extravaseras vid redan befintliga sprickor (skador) i endotelet → lättare att ta sig ut. Även vid fenestrerade eller sinusoida kärl tenderar cancercellerna att lättare extravasera → vanligt med metastaser i levern.

(4) Om cancercellerna lyckas extravasera kommer de nu återigen att åta sig sin epiteliala fenotyp och genomgå **mesenchymal-epitelial-transition (MET)**. Cellerna måste nu kolonisera målorganet. För att överleva induceras angiogenes, vilket görs genom att producera VEGF (se *Angiogenes*)
Hur cancercellerna gör platsen de tagit sig till beboelig är ej helt klarlagt men man tror att det har med att tumörcellerna och stromacellerna utsöndrar TF samt cytokiner (*detta kan klargöras lite efter att ha läst Hallmarks of cancer*)

Nedan går vi igenom två teorier om vilken väg tumörcellerna tar vid metastasering. Dessa kan vara bra att lägga på minnet.



ANATOMISKA MEKANISKA HYPOTESEN

De flesta cancercellerna åker ut igenom de kärl/lymfan som ger första kapillärväggen. Metastaserna följer alltså blod- och lymflöden till de anatomiskt närmast belägna kapillärbäddarna eller lymfnoderna, som enligt den här teorin är icke-specifika. Det första organet som tumörcellerna träffar på är därför också den principiella platsen för metastasen. De flesta metastaser återfinns vid den kapillärbädd som ligger närmast tumören, vilket är orsaken till att så pass många metastaser hamnar i lever och lungor.

SEED AND SOIL HYPOTHESEN

Dock finns det andra teorier (Seed and soil-hypotesen) som menar att vissa tumörer har en specifik tropism (lättare att metastasera i särskilda organ). Detta beror bland annat på:

- Vissa typer av tumörceller tenderar att uttrycka specifika adhesionsmolekyler, vars ligander endast uttrycks på endotelet i särskilda organ. Exempelvis är det vanligt att tumörer i lungan metastaseras i

binjuren, då adhesionsmolekyler på dessa tumörceller har förmåga att binda in och stanna i just binjurens blodkärl → underlättar diapedes (extravasation).

- Vissa cancerceller uttrycker även särskilda kemokinreceptorer, såsom CXCR4 och CCR7 (bröstcancerceller). Dessa receptorer spelar en avgörande roll för extravaserade tumörceller, som efter en kemotaktisk gradient, kan röra sig in i vävnaden och börja tillväxa. "EN extravaserad tumörcell som inte vet vart den ska (ingen kemotaktisk gradient) och kan därigenom inte hitta in i vävnaden där den kan tillväxa."

FALLET

Lisa, 73 år, söker vårdcentral efter ha noterat en knöl i höger bröst sedan några månader tillbaka.

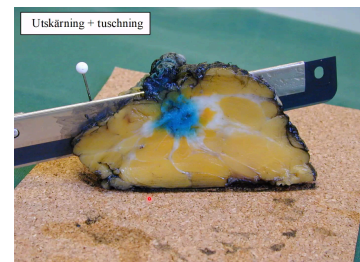
Vad gör du och hur tänker du?

- Palperar knölen. Är den mjuk, hård eller vätskefylld? Går den att flytta på eller sitter den fast? En ej fritt förskjutbar tumör = malignitetstecken.
- Palpera lymfkörtlar vid clavikeln och i axillerna.
- Ta cytologisk/histologiskt prov

Patienten opereras för sin bröstcancer...

Vad behöver du veta nu?

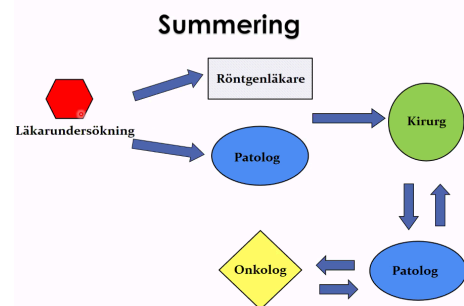
- Är det en tumör? Om ja, benign eller malign?
- Radikaliteten, dvs är allt borttaget eller inte? Hittas cancerceller i den äkta kanten (där kirurgen skurit, målat med tusch) är risken stor att det även finns aggressiva celler kvar hos patienten.
- Vad är det för typ av tumör, och hur ska den behandlas?



Du vikarierar nu på onkologiska kliniken och får PAD på Lisas bröstresektat (den biten som skurits ut). PAD står för patologisk-anatomisk diagnos, vilket är patologens utlåtande kring ett prov efter att ha gjort både en makroskopisk samt en mikroskopisk undersökning.

PAD säger:

- Typ: Invasiv duktalcancer
- Storlek: 25mm
- Gradering: grad II
- Radikalt borttaget (inget finns kvar hos Lisa)



CELLULÄR CARCINOGENES // TUMÖRUTVECKLING

Carcinogenes, eller med andra ord tumörutveckling, syftar till de molekylära processer som leder till utvecklingen av cancer. Dessa processer innefattar både genetiska eller fenotypiska förändringar som i sin tur leder till en obalans mellan cellproliferation och celledöd.

ALLMÄNT OM CANCER

Cancer är en sjukdom vars frekvens ökar med åldern. Detta beror på att ju längre man lever, desto mer kommer DNA:t att utsättas för diverse prövningar som riskerar mutationer. Bland män är **prostatacancer** den

absolut vanligaste och även den dödligaste typen. Hos kvinnor dominerar **bröstcancer**, som däremot inte är lika dödlig som lungcancer. Viktigt att minnas är att cancer inte betyder en dödsdom.

Den cancer som ökar mest i europa är **hudcancer**. Detta tros bero på de ökande socioekonomiska förhållanden som möjliggör för fler att resa utomlands och spendera mer tid i solen. Dock kan man observera att väldigt få dör av hudcancer då det är en långsamt växande tumör samt att man snabbt kan se den.

Livmoderhalscancer är en typ av cancer man hoppas se en minskning av inom 20-30 år som resultat av HPV-vaccinen som distribuerats till tonåringar. Redan kan man se en minskning sedan 80-talet sen man införde regelbundna cellprover av cervix.

Pankreascancer är en ovanlig cancertyp, men som dock nästan är likställd med dödsdom.

MODIFIERBARA RISKER

50 % av all cancer orsakas av en modifierbar risk, dvs en faktor vi har möjlighet att kontrollera.

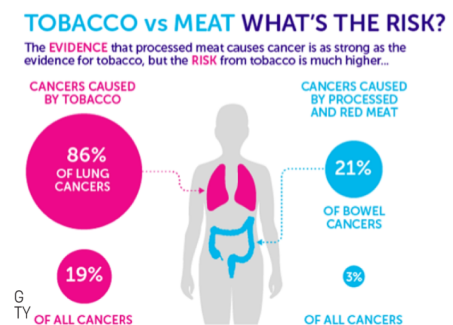
Läge	Män				
	Grundskola	Gymnasium	Eftergymnasial	Övriga	Samtliga
Tjocktarmscancer	47.7	47.4	42.5	41.4	46.0
Ändtarm och anus	34.8	33.0	29.2	35.9	32.5
Lungcancer	58.9	44.1	26.3	74.3	42.4
Bröstcancer	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Kvinnliga könsorgan	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Prostata	246.7	273.0	291.4	155.9	271.9
Malignt melanom	41.6	54.9	65.8	32.3	55.4
Hudcancer (ej melanom)	46.8	51.3	62.1	31.3	53.1
Övrig cancer	324.2	296.4	256.9	321.5	289.8
Samtliga lägen	800.9	800.3	774.2	692.6	791.1

Bland annat kan man se mönster av att de med högre utbildning, och därmed oftast lite tätare i kassan, löper högre risk för hudcancer då dem har större möjligheter för solsemester.

Lungcancer är relativt enkel att undvika genom att avstå från rökning. Det finns bevis för att 86% av all lungcancer beror på rökning. Även rött processat kött ligger till grunden för 21% av all tarmcancer.

Livmoderhalscancer ses som 100% modifierbar risk, i och med att man kan avstå från att vara sexuellt aktiv. Därav får man ta procentsatserna med en nypa salt.

Senare kommer vi att diskutera de molekylära mekanismer som längre inte fungerar vid cancer. Men vad som är viktigt att förstå är att, det i **regel alltid är olika virus /modifierbara beteenden** (ex. rökning) som driver de molekylära felaktigheterna.



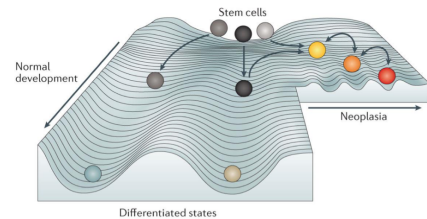
CELLENS URSPRUNG OCH SPECIFICITET

I en frisk cell:

I embryot har vi en handfull med celler som ger upphov till alla celler i kroppen som tillhör olika cellinjer. Utifrån dessa celler får vi en så kallad "**lineage-narrowing**" som innebär olika **differentierings vägar** som specialiserar våra celler. Den pathway som en cell tagit går inte att backa längs, och den kan heller inte byta spår.

Mekanismer vid cancer:

Cancer innebär en **förlust av cellens identitet**. Detta sker då ett initierande event, så som ett virus eller mutation, "knuffar" över cellerna till en annan patologisk linje där cellen fortskrider sin differentiering. Genom att fler mutationer sker kan dessa celler nu börja transdifferentiera och hoppa mellan olika linjer.



HALLMARKS OF a CANCER CELL

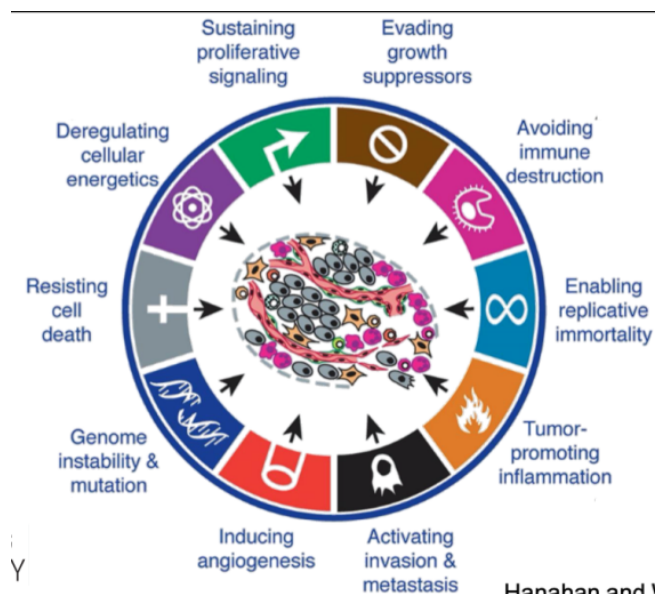
Hallmarks of cancer är en simplificering av cancers karakteristiska, men ger oss en övergripande bild av hur en cancer cell beter sig.

- **Obegränsad replikativ förmåga**

- **Anses vara den viktigaste**
- Cellen som i vanliga fall kommer gå apoptos eller cellulär senescence efter ett visst antal delningar kan nu dela sig obegränsat. Detta beror på att cancercellerna uppreglerar telomeras (läs mer under behandlingar av telomeras).

- **Tumör-främjande inflammation**

- I vävnaden runt om tumören kommer en inflammation att uppstå, vilket leder till ökat blodflöde och ökad utsöndring av tillväxtfaktorer → gynnar tumören.



Hanahan and 1

- **Invasion och metastasis**

- Lär sig att invadera andra vävnader och metastasera (läs mer under spridningsvägar).

- **Angiogenes → Angiogenic switch.**

- Utsöndrar signaler som aktiverar angiogenes så kärl växer in i tumören (läs mer under behandlingar av angiogenes). Aktiveras av hypoxi, mutationer p53 samt VEGF.

- **Genominstabilitet och mutationer**

- **Mutationer och deletioner i gener som har med DNA-reparation eller upprätthållande av genomisk integritet** att göra, exempelvis i DNA-reparationsgener, resulterar i att de olika reparationsprocesserna inte fungerar optimalt. Detta resulterar i att mutationer i andra gener, exempelvis i onkogen eller tumörsuppressorgener, inte repareras lika effektivt → ökar risken för progression av tumören.

- **Förhindra celldöd**

- Normalt sätt är cellproliferation och programmerad celldöd i balans, alltså att proapoptotiska (BAX, BAK) och antiapoptotiska faktorer (Bcl2) upprätthåller proliferationshomeostas. Cancer cellen måste däremot kunna motså apoptos för att kunna överleva. Detta sker genom

mutationer i gener som reglerar apoptos, främst genom mutationer av viktiga komponenter i den intrinsiska vägen. De vanligaste mutationerna som gör att apoptos inaktiveras är **förlust av p53-funktion** eller **förstärkning av MDM2**. Ytterligare ett att undvika apoptos är genom **överuttryck av anti-apoptotiska medlemmar av Bcl2-familjen**.

- **Omreglera cellulär metabolism → Warbureffekten**

- Tumörcellerna profilerar med hög hastighet, vilket gör att de trots aeroba förhållanden blockerar ATP-produktionen i mitokondrien och producerar laktat. Denna förändring i glykolysen resulterar i produktion av metaboliter (intermediärer som används för syntes av aminosyror, nukleotider, lipider), alltså komponenter som cellen behöver för att bilda nya celler (läs mer under Warbureffekten).

- **Bibehåller proliferativ signalering**

- **Onkogener** med GOF kan få cellen att tillverka egna tillväxtfaktorer → skapar en egen signal för proliferering (är alltså inte beroende av extracellulära stimuli för att proliferera). Utöver tillväxtfaktorer kan även transkriptionen av **tillväxtfaktor-receptorer** (ex. EGFR) och **intracellulära signalförmedlare** (ex. RAS, RAF, ERK 1/2, PI3K) öka.

- **Förhindra tillväxt-dämpare**

- Tumörcellerna utvecklar en okänslighet mot tillväxthämmande signaler, vilket exempelvis görs genom LOF i tumorsuppressorgener. Exempel på detta är punktmutationer i p53 eller en deletion i Rb, vilket resulterar i att ett cellcykelstopp inte kan ske i G₁/S-övergången → cellen kan proliferera okontrollerbart. I dessa fall krävs det att **båda allelerna är inaktiverade**.

- **Undvika immundestruktion – läs mer under immunoterapi**

- Hjälper metastaseringen då spridda cancerceller kan uppfattas som kroppsfrämmande.

I vissa fall menar man att tumör-främjande inflammation och genom instabilitet är ett "tillåtande karakteristika" och inte en egentlig Hallmark. Detta på grund utav att dessa två faktorer anses som de som möjliggör och accelererar de andra hallmarken.

TIPS! Dessa hallmarks är bra att kunna, en ramsa kan hjälpa då det är lätt att tro att man minns alla för det är så "intuitiva" men när man väl kommer till kritan är det lätt att tappa bort någon.

MUTATIONER

All cancer kräver mutationer för att utvecklas. Dessa kan bero på:

- DNA replikations fel
 - Sker inte så ofta, då cellerna själva är bra på att fixa dem
- Instabilitet av puriner och pyrimidiner
 - Kan attackeras av ROS som leder till DNA skador
- Fria radikaler
 - Kan attackera DNA som leder till skador
- Miljöfaktorer som UV-ljus och aflatoxin B1
 - Naturliga

- Syntetiska carcinogener som tobak och asbest

Punktmutationer är de vanligaste när det kommer till cancer.

AFLATOXIN B1

En **viktigt princip** inom carcinogener är att många av dem är, i sin ursprungliga form, inte farliga. Det är när våra celler genomför **biotransformation** av ämnena, i ett försök att hantera dem, som de istället bildar en mycket farligare molekyl.

Aflatoxin är ett helt naturlig kemikalie som kan hittas på grönsaker eller nötter i varma förvaringsutrymmen. Vid högt intag av ämnen kommer leverns enzymer att omvandla aflatoxin till Epoxid. Epoxid i sin tur fäster på en guanin på utsidan av DNAt. Detta leder till:

- Problem med replikation
- Höga nivåer av mutationer
- Guanin Mutationer i p53



TYPER AV MUTATIONER

Germ-line vs Somatic

Germ-line mutationer är en typ av mutation som vi ärver, medan somatiska mutationer är något som utvecklas i somatiska vävnader. Dessa mutationer går heller inte att ärva. Den stora majoriteten av alla cancersorter urspringer ur somatiska mutationer. Finns dock undantag som bröstcancer, BRCA1, som är en typ av mutation som ger anlag/ökad känslighet för cancer. Li-Fraumeni är också ett exempel på ärftlig predisposition till cancer. Mer om ärftlighet under *Cancer och Ärftlighet*.

Gain of function vs Loss of function

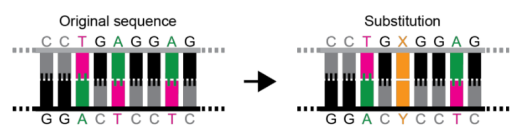
Loss of function (LOF) innebär en mutation som innebär att cellen får mindre/ingen funktion. Exempel på detta är när B-hemoglobin muteras så att de inte kan bära tillräckligt mycket syre. DOCK kan denna mutation fortfarande vara **fördelaktig** i vissa situationer då den ger ett visst skydd mot malaria.

Gain of function (GOF) innebär att cellen får en helt ny funktion istället. Ett exempel på detta är Philadelphia kromosomen som är en mutation där en del av kromosom 9 och 32 byter plats (translokation, large scale mutation), varvid en helt ny gen bildas. Genen kodar för hyperaktiv proliferation av myeloida celler → kronisk myelogenous leukemi. Denna mutation är direkt **skadlig**.

Small-scale mutations

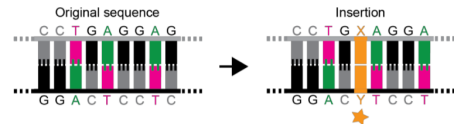
Substitution/punktmutation:

- En enkel nukleotid blir inkorrekt ersatt av en annan, vanligtvis sker detta under replikation
- Transitions är vanligare än transversioner → En purin byts ut av en purin (AG) eller pyrimidin mot en pyrimidin (CT)

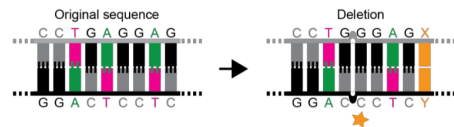


Insertion:

- En eller flera extra nukleotider sätts in

**Deletion:**

- En eller flera nukleotider skippas

**Effekten av punktmutationer**

Vid en punktmutation kan effekten på proteinet bli väldigt varierande beroende på var i kodonet, samt vilket kodon som muteras.

Silent mutation:

- Innebär att punktmutationen ger upphov till den aminosyran som det ursprungligen var kodat för

Nonsense mutation

- Kodonet kommer att bilda ett STOP-kodon vilket resulterar i ett kortare och ofta ofunktionellt protein

TGT	Cys
TGC	Cys
TGA	Stop
TGG	Trp

Missense mutation:

- Det nya kodonet kodar för ett annan aminosyra som ger upphov till ett förändrat protein. Ofta med ny funktion

Large-scale mutations

Vid dessa typer av mutationer handlar det om större förändringar i kromosomstrukturen (vilket även hörs på namnet).

Translokation:

- En del av en kromosom byts ut mot en del från en annan kromosom.

Deletion:

- En hel kromosomarm eller fragment av DNA försvinner och kommer ej tillbaka.

Insertion:

- Ett segment tas från en kromosom och adderas till en annan.

Duplicering/amplifiering:

- Vi får dubbla uppsättningar av ett visst kromosomsegment.

Translokation och amplifiering är mekanismer som kan leda till överuttryck → gain of function.

PASSENGER VS DRIVER

Inte alla mutationer är viktiga eller bidragande faktorer till patogenesen (uppkomsten av en sjukdom). Det är därför viktigt att särskilja mellan de mutationer som tillkommer som resultat av den ursprungliga mutationen. Man kallar det för **drivers** och **passengers**, där passengers inte har en avgörande roll i cancers första utveckling.

Detta är svårt att urskilja då majoriteten av alla mutationer är passengers. Oftast rör det sig om 1-2 kritiska mutationer som är drivers.

“Vilken bil var det som orsakade den massiva bilkrocken?”

CANCER OCH ÄRFTLIGHET

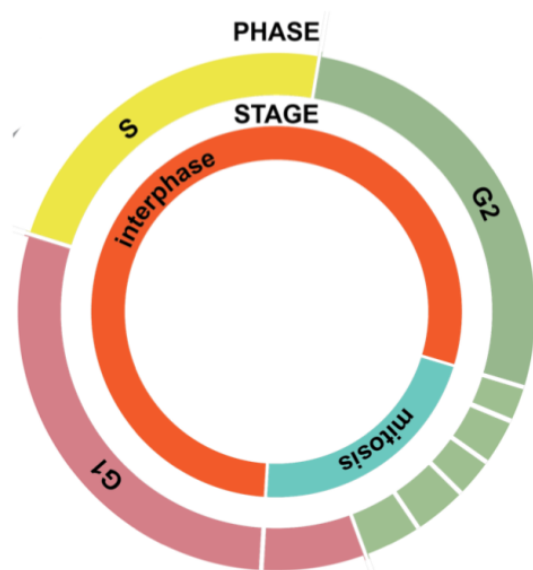
Det går inte att ärva en tumör och cancer, då dessa specifikt inte uttrycks i DNA. Däremot går det att ärva en predisposition (anlag/känslighet) för att få cancer. Denna predisposition kan däremot vara väldigt stark och tydlig, vilket gör att sannolikheten ändå nästan är 100% att en cancer utvecklas. Det krävs flera genetiska förändringar för att utveckla en tumör = det krävs alltså fler mutationer än en enda i en onkogen eller tumörsuppressorgen. Carcinogenesen är därför en flerstegsprocess som består av ackumuleringen av flera genetiska förändringar som tillsammans ger upphov till en förändrad fenotyp och uppkomst av de typiska “Hallmarks of cancer”.

BRCA1 är ett exempel på en vanligt muterad gen vid bröstcancer, som dessutom är ärftlig. BRCA1 är en tumörsuppressorgen som ansvarar för att reparera DNA → skada på genen ökar risken för carcinogenes.

CELLCYKELN OCH DESS CHECKPOINTS

Cellcykeln kan delas upp i olika faser baserat på dess funktion samt vilka cyklin som verkar. För att förstå hur cancerceller fungerar är det viktigt att förstå hur den friska cellen prolifererar.

- **G1** - Under G1 fasen sker majoriteten av tillväxten. Organeller fördubblas och så även dess storlek.
- **S** - Genom signaler, både från insidan och utsidan, börjar cellen att replikera DNAt.
- **G2** - Är i mångt och mycket likt G1 genom att cellen växer och blir större. Detta för att den skall kunna dela sig och ge upphov till två dotterceller som är lika stor som ursprungscellen.
- **Mitos** - Därefter inleds själva delningen där vi tillverkar två likadana dotterceller.



Cykeln är väldigt kontrollerad genom framförallt tre checkpoints:

- **G1/S** - Här kontrolleras att cellstorleken är okej, men också att DNAt är korrekt. Om något inte står rätt till kan cellen pausa cykeln för att försöka reparera sig. Om det inte är möjligt kommer cellen gå i apoptos.
 - **P53** kommer att primärt leta efter DNA skador och om funna; aktivera reparationsmekanismer. Dessutom kommer p53 att aktivera **p21** som kommer att inhibera CDK/cyklin komplex vilket gör att cykeln pausas.
 - **Retinoblastoma (Rb) proteinet** mäter cellstorleken. Ju större cellen blir, desto fler fosfatgrupper adderas till Rb. När cellen är tillräckligt stor kommer Rb att frigöras från

transkriptionsfaktorn E2F. E2F är ett protein som binder till promotorregionen till gener som startar replikationen.

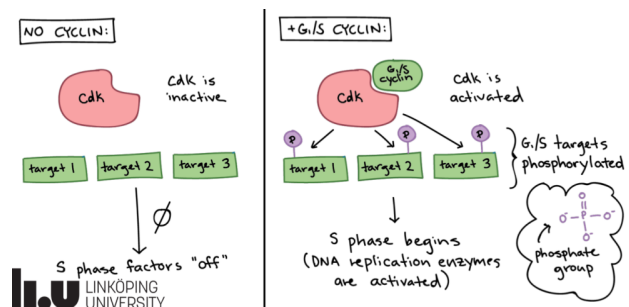
- **G2/M** - Här kontrolleras cellstorlek, metabolism samt eventuella DNA skador.
- **Spindle-checkpoint** - görs under mitosen. DNAt har här replikerats och cellen innehåller systerkromatider. Kontrollen innebär en undersökning om dessa, under anafasen, kommer separeras korrekt (dras mot varsin pol).

KONTROLL AV CELLCYKELN

Man kan fråga sig hur vi har sådan kontroll över cellcykeln. Det är tack vare CDK - cyklin dependent kinas, samt cykliner.

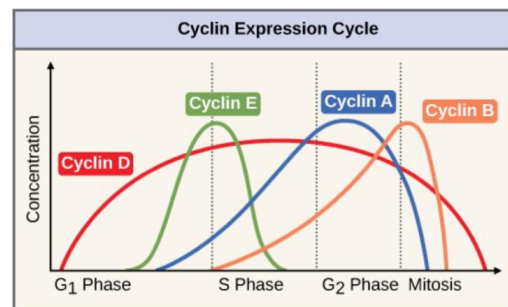
- CDK uttrycks på samma nivåer under hela cellcykeln och har själva ingen funktion.

När rätt cyklin binder in till CDK kommer de att aktiveras och därmed börja fosforylera olika målmolekyler. Dessa molekyler är enzymer som stimulerar till DNA replikation.



Beroende på var i cellcykeln vi är uttrycks olika cykliner som har olika funktioner.

I cellcykeln och dess checkpoints finns det tre klasser av gener som påverkas/mutas vid cancer; **tumor suppressor genes**, **oncogenes** samt **"caretaker genes"**, som vi kommer att gå igenom nedan.



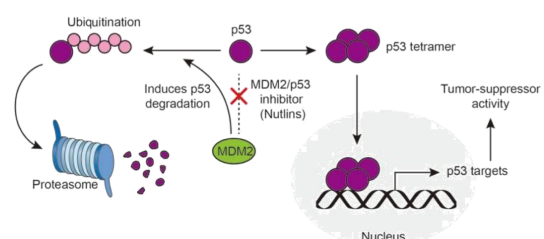
TUMOR SUPPRESSOR GENES

Karakteristika:

- Tumor suppressor genes (TSG) kodar för **negativa regulatorer** för cellproliferation, genom att antingen stoppa den eller göra den långsammare.
- Mutationer av TSG fungerar genom att reducera eller eliminera dess funktion → **Loss of function**.
 - För att detta skall ske måste **båda allelerna** muteras.
- Mutationen kan ske på **flertalet ställen** inom genen vilket skiljer sig från onkogenerna som vi kommer till senare.

p53

Den mest kända TSG är **guardian of the genome**, p53, som verkar i G1/S-checkpoint. Mutationer i p53 är vanligt i många cancersorter och är svårt att göra något åt. Det som dock är intressant är att p53, i många cancerceller, är "wild type" dvs inte muterat. Istället är det tajt bundet till MDM2, vilket inhiberar p53 från att göra sitt jobb. I en normalt



fungerande cell fosforyleras p53 vid behov → släpper MDM2 och kan utföra dess uppgift som guardian of the genome.

- MDM2 kommer att föra ut p53 ur kärnan där det ubiquiniteras och bryts ned

Ett sätt att frigöra MDM2 från p53 är genom en inhibitor, Nutlins. Problemet är att interaktionen mellan p53 och MDM2 är en **naturlig feedback loop** för att upprätthålla normala nivåer av p53. Genom att använda Nutlins, en typ av kemoterapi kommer vi inducera celldöd även i celler vi inte vill det.

GENETIK OCH P53 MUTATION

p53 är en s.k. tumörsuppressorgen, som genetiskt och cellulärt fungerar recessivt. Cellen ärver en muterad kopia av genen, men dess cellulära funktion upprätthålls av den kvarvarande allelens produktion av ett funktionellt protein. För att p53:s funktion helt skall försvinna från cellen så krävs att den icke-muterade kopian inaktiveras/mutas. Detta kan ske till följd av exponering för olika miljöfaktorer, vilka orsakar mutationer i DNA, exempelvis strålning. Det vanligaste är nog att den normala kopian förloras via endogena mekanismer (s.k. "loss of heterozygosity") där det vid celledelningen blir fel när kromosomerna skall fördelas på dottercellerna under mitosen, den ena dottercellen får tre kopior och den andra får endast en kopia. Om den cellen då förlorat sin normala kopia, finns bara den muterade kopian kvar och genen har i den cellen förlorat sin funktion (dvs. båda allelerna har inaktiverats, en recessiv mekanism). Cellen blir då "homozygot" med avseende på den muterade genen (Knudson's "two-hit hypothesis").

Barn som ärver en p53-mutation blir då predisponerade för inaktivering av den andra mutationen och erfar en ökad risk för cancerbildning. Sannolikheten att förvärva en "andra hit" är så stor att den troligen inträffar under en livstid och man utvecklar en cancer, dvs. nedärvningsmönstret av fenotypen cancer ser dominant ut. På cellulär/genetisk nivå är cancer en recessiv sjukdom.

Från Edit fallet. Ej tagits upp på föreläsning men resonerade att det fanns relevans med ett exempel kopplat till cancer och ärftlighet.

RETINOBLASTOMA (Rb) proteinet

Även Rb proteinet som är aktivt vid checkpoint G1/S kan muteras vilket gör att cellcykeln fortskrider trots felaktigheter. (viktigt att säga Rb-"protein" så retinoblastoma för sig självt innebär ögoncancer.

ONKOGENER

Karakteristiska:

- Onkogener är, till skillnad från TSG, **gasen** i vår cellproliferation.
- Mutationer fungerar genom att öka eller förändra funktionen av genen → **Gain of function**
 - Leder ofta till att gener är aktiva i delar av cellcykeln som de initialt inte är menade till
- Mutationen är på en **specifik plats** (skiljer sig mot TSG)
- Onkogener är typiskt sätt **dominanta** vilket innebär att mutationen inte behöver finnas på båda allelerna.
 - Detta är ett bra sätt att avgöra huruvida det är en onkogen eller tumörsuppressorgen.
- Exempel; RAS; RAF; cMYC

Alla har proto-onkogener i sina celler som är livsnödvändiga för vår celldelning. Onkogener är alltså per definition **muterade** eller överuttryckta versioner av proto-onkogenerna. Aktivering av dessa gener leder alltså till kontinuerlig signalering som stimulerar proliferationen. Detta kan ske genom amplifiering, mutation i promotorn eller att den genen hamnar under annan transkriptionell kontroll.

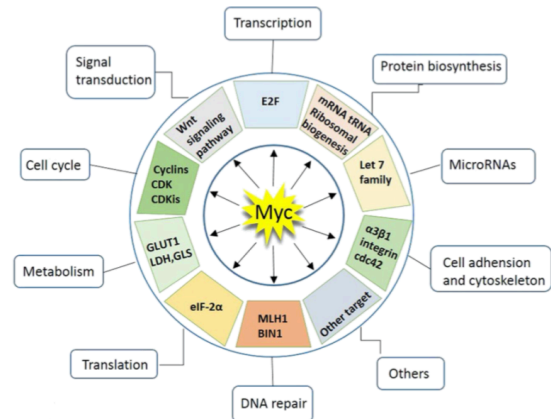
Onkogener nedärvs sällan muterade eftersom de är dominanta på cellnivå. Därmed störs redan den embryonala utvecklingen vilket ej är förenligt med liv.

cMyc

cMyc är en onkogen (transkriptionsfaktor) som oftast inte drabbas av den första mutationen vid cancer, men vid ökat uttryck av cancerceller uppregleras cMyc. Detta protein är bra på att hjälpa cancerceller behålla deras status.

Funktioner:

- Uppreglerar cykliner
- Nedreglerar p21
- Kan reglera upp till 15% av alla våra gener vilket är oerhört mycket → **observera bilden**



Det är svårt att bekämpa överfunktionellt cMyc.

Andra onkogener

- BCR-abl
- RAS - Vid mutation av detta protein kommer cellen få konstanta pro-proliferativa signaler.

RAS och cMyc är båda proto-onkogener som endast behöver en lite "knuff" för att övergå till onkogener.

CARETAKER GENES

Har lite liknande mekanismer som tumörsuppressorgener. Klassas i en egen kategori eftersom de har en speciell funktion i att försöka **upprätthålla integriteten i arvsmassan och motverkar förändringar**. Till gruppen hör bland annat DNA-reparations-molekyler. Generna har alltså ingen direkt roll i cellcykeln, men hjälper till.

Karakteristika:

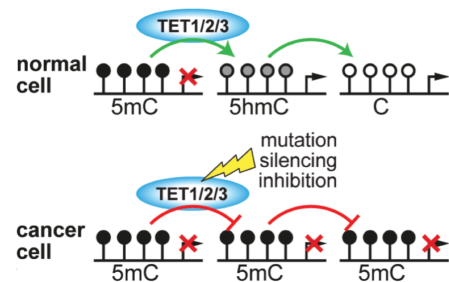
- Mutationer främjar en ökning av **fler mutationer** (HNPCC, coloncancer)
 - Större möjlighet för cellerna att förlora sin identitet och generera cancerceller
 - Promotar INTE alltid cellproliferation MEN bidrar till mutationerna som står för proliferationen
- Främjar en **avreglerad cellhomeostas** genom exempelvis **epigenetiska regulatorer**
 - Kan tysta eller aktivera gener som är fördelaktiga för att förändra cellhomeostasen

TET2

TET2 är en gen vars protein har till funktion att ta bort metyleringar. TET kan påverkas genom att det tystas, muteras eller inhiberas. Detta innebär att många gener som inte bör bli tystade blir det.

- Exempel, p53 kan stängas av

TET i sig **bidrar alltså inte** till cancer, men om den stängs av kommer cancers få större möjlighet att stänga av tumörsuppressorerna.

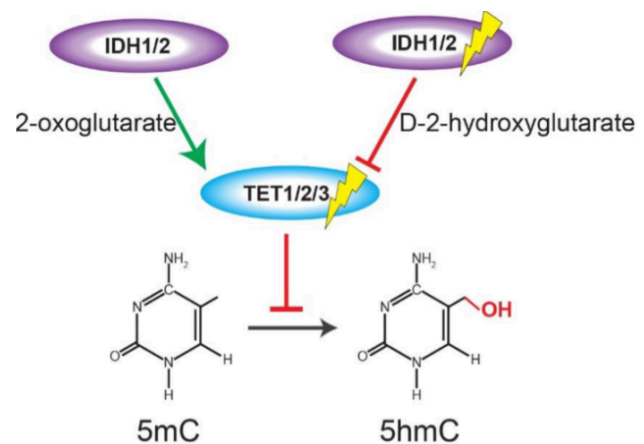


PHENOCOPIES

En phenocopy innebär att vi har två olika mutationer med en och samma effekt. När vi ser denna typ av pathway vet vi att effekten är viktig för cancers överlevnad.

Exempel:

- TET enzymer muteras (LOF) vilket ökar antalet metyleringar i DNAt → tumörsuppressorgener tystas
- IDH har funktion i generella metabolismen. Vid mutation sker en GOF, vilket gör att den börjar bilda ett nytt ämne som inhiberar TET → metyleringar kan längre inte tas bort



IDH mutationer är alltså en fenokopia av TET mutationer → samma effekt, olika mutationer

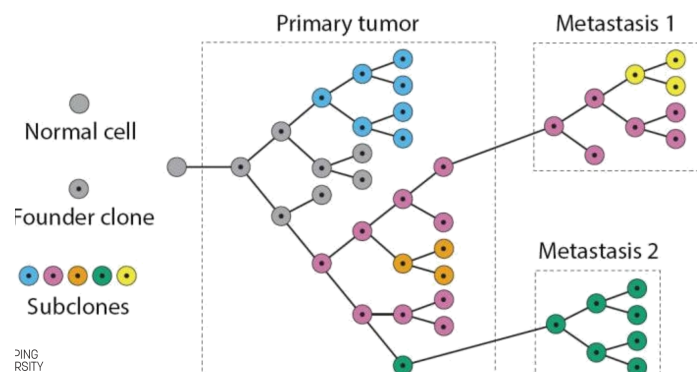
CELLULAR CARCINOGENESIS II

CANCERS UTVECKLINGSKONCEPT

Två teorier har lagt grunden till hur vi förstår cancer idag.

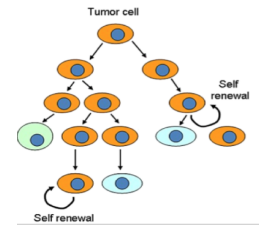
KLONAL UTVECKLINGSMODELL

Den klonala utvecklingsmodellen är den enklaste av dem två där vi utgår från en normal cell. Därefter sker det en mutation i en cell som hädanefter kallas *grundar klonen*. Denna klon är den första cellen som har egenskaper som gör den onormal (driver mutation) med exempelvis möjligheter att dela sig snabbare.



Som tidigare läst gynnar mutationer ännu fler mutationer, vilket är det som sker (se subkloner på bilden). Tillsist får cellerna tillräckliga mutationer som ger cancercellerna egenskapen att metastasera och därmed förflytta sig runt i kroppen.

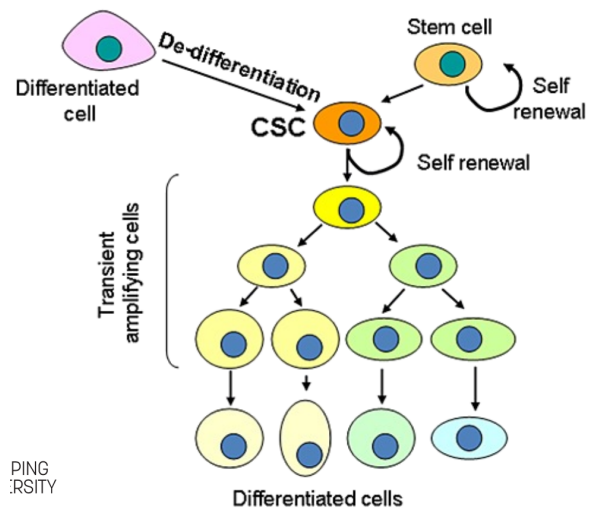
Till följd av ständigt pågående mutationer och naturligt urval, så kommer maligna tumörer utveckla en **heterogenitet** när de väl visas kliniskt. Det innebär att trots att alla cancerceller har ett monoklonalt ursprung (kommer från samma grund klon) kommer de att se väldigt olika ut. Detta är vad de olika färgerna på bilden försöker att illustrera.



STAMCELLS MODELLEN

Den andra modellen är inte riktigt fullständig än då vi ej kan fastställa om den kan tillämpas på alla cancersorter.

Teorin utgår ifrån en differentierad cell som de-differentierar till en cancer stamcell (CSC). De-differentiering innebär att en delvis differentierad cell går tillbaka i sin utveckling till ett mindre differentierat tillstånd. En stamcell har kompetensen att alltid kunna genomgå självförnyelse, samt har en obegränsad kapacitet till proliferation vilket CSC tros göra. CSC kan ge upphov till fler cancerceller som fortskrider mutationerna på samma vis som i den klonala utvecklingsmodellen.

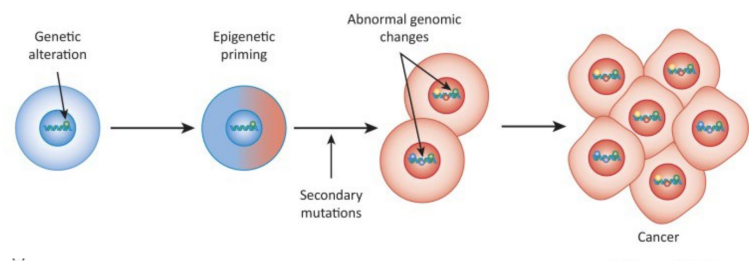


Problemet med att försöka behandla denna typ av cancer är att man aldrig kommer kunna ta död på cancers förens man kommer åt stamcellerna, som tros vara en mycket liten andel av cancercellerna.

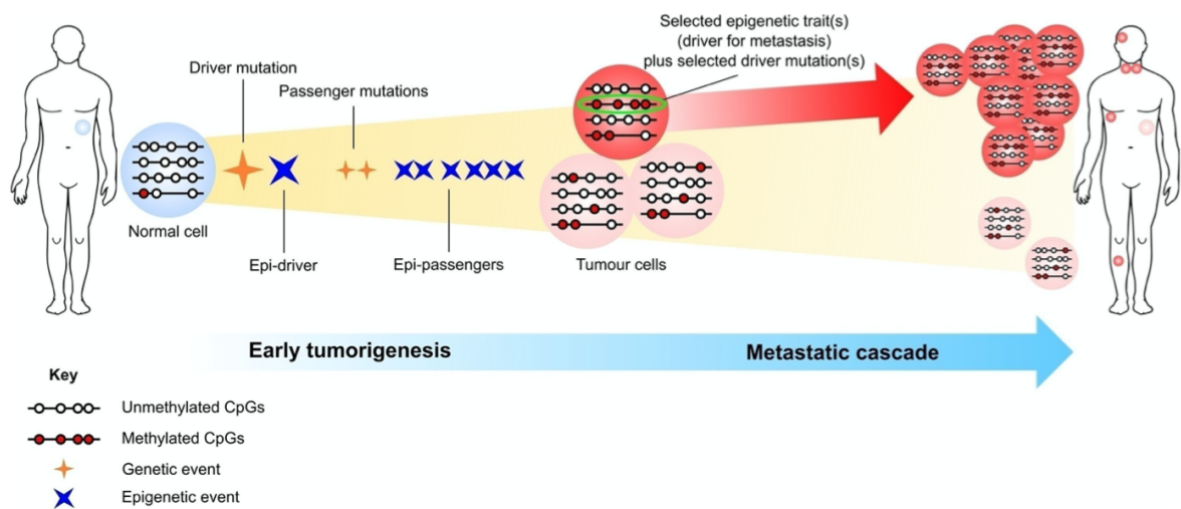
EPIGENETIK

Under en cancers utveckling kommer en tumörs identitet fastställas och underhållas framförallt genom epigenetiska modifikationer/priming. Vi har alltså "driver-mutationer" samt "driver-priming" som tillsammans skapar tumörceller. Epigenetisk priming innefattar histonmodifieringar samt metyleringar som påverkar genuttrycket.

Faktum är att många av oss redan har mutationer i tumörsuppressorgener, vilka bara "väntar" på att något annat skall ske. Något som möjliggör epigenetiska förändringar, vilket möjliggör onormala genomiska förändringar. Observera bilden.



Dessa epigenetiska modifikationer kan aktiveras av både endogena faktorer och miljöfaktorer.



CANCERLÄKEMEDEL – EN RESA FRAMÅT SAMT CARCINOGENES 2 (BEHANDLINGAR)

Detta är en sammanslagning av föreläsningarna *Cancerläkemedel – en resa framåt* samt *Carcinogenesis II*, då båda föreläsningarna tog upp behandlingar vid cancer ansåg vi att det var lättare att läsa i ett sammanhang.

ÖVERLEVNAD I CANCER

Sedan 80-talet har canceröverlevnaden förbättrats, vilket till stor del beror av bättre behandlingsalternativ. Överlevnaden hos män har stigit mer än för kvinnor, vilket man tror beror på att män förr i tiden rökte betydligt mer än kvinnor. Detta är i dagsläget ombytta roller, som sannolikt är en förklaring till varför procentuellt fler män idag överlever cancer än kvinnor (marginell skillnad).

Kopplat till behandlingsalternativen har forskningen gått framåt bland de allra flesta cancersorter, såsom vid hjärntumörer, leukemi eller bröstcancer. En cancertyp som dock fortfarande idag är ett sorgebarn är pankreascancer med under 10% överlevnadsfrekvens.

ALLMÄN INFO

Vid diagnos (tidstillfället) är medelsnittstumören 10 mm i diameter och ca. 50% har metastaserat. Prognosen för en malign sjukdom är generellt starkt ihopkopplad med huruvida tumören metastaserat eller inte innan operation.

- **Ingen metastasering** → 100% bot kan erhållas genom kirurgi, så länge tumören är möjlig att operera bort. I dessa fall behövs varken strålterapi eller kemoterapi.
- **Mikrometastaser** - Medikamentell behandling "kan ge" effekt. Metastaserna går inte alla att se, och är således svåra att enbart kirurgiskt operera bort. I flera fall kombineras därför både kirurgi och medikamentell behandling, vilket kallas för **adjuvant behandling**.
- **Makrometastaser** - Har tumören lyckats metastasera i hjärna, lever, lungor etc. finns det i de allra flesta fall ingen bot. I samband med detta inleds ofta **palliativ behandling**.

När ett liv inte längre går att rädda inleds palliativ behandling, vilket innebär en rad olika saker. Förlänga överlevnaden så långt det går, lindra symtom, minska illamående (görs med anti-emetika) och minska smärta och ångest (görs med morfinpreparat).

BEHANDLINGSSTRATEGIER

Målet med cancerterapi är att antingen döda eller oskadliggöra alla cancerceller i kroppen, vilket kan göras på olika sätt beroende på om tumören är avgränsad eller spridd i kroppen.

BEHANDLING VID AVGRÄNSADE TUMÖRER

Vid vetskap om vart en tumör finns lokaliserad behandlas dessa i första hand med kirurgi eller radioterapi, vilket är bra metoder då dessa inte påverkar övriga kroppen.

RADIOTERAPI

Hälften av alla cancerpatienter får någon gång en strålbehandling, där själva strålbehandlingen står för ca. 30% av all bot mot cancer. Det finns olika typer av strålbehandling, vilka namnges utifrån varifrån behandlingen sker.

- **Extern strålbehandling (vanligast)** - Strålkällan finns utanför kroppen.
- **Brakyterapi** - Strålkällan placeras invid eller i tumören (vanligt vid underlivscancer)

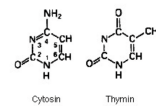
Strålbehandling kombineras ofta med cytostatika (läkemedel), hormonbehandling eller annan behandling. Radioterapi kan både skada DNA:t direkt genom att orsaka enkel eller dubbelsträngat brott som leder till att cellen går i senescence, men även genom produktion av fria radikaler som skadar DNA:t.

KEMOTERAPI

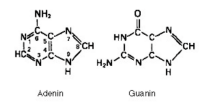
Den terapeutiska principen för den traditionella kemoterapien bygger på **skillnaden i känslighet mellan prolifererande och icke-prolifererande celler** gällande ex. DNA-skador och mitoshämning, där de prolifererande cellerna då är betydligt mer känsliga. Det beror på att replikerande DNA är mer känsligt för DNA-skador än icke-replikerande eftersom skadorna måste repareras relativt snabbt när cellen befinner sig i S-fas.

Detta gör behandling relativt osofistikerad och biverkningsprofilen blir som väntat att normalt prolifererande celler också blir känsliga för kemoterapi.

Pyrimidiner



Puriner



Pyrimidin/purin-analoger (exempel)



ANTIMETABOLITER

Är modifierade baser som liknar de normala byggstenarna som krävs för DNA- eller RNA-syntes, vilket leder till en hämning av både syntes och metabolism av såväl nukleotider som DNA. Vid hämrad DNA- och RNA-syntes går den drabbade cellen i apoptos. Det finns flera olika antimetaboliter, och här nedan följer några exempel:

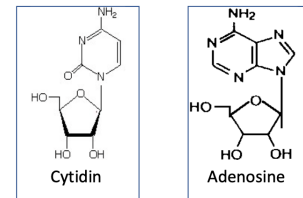
- **Pyrimidin/purin-analoger (övre bilden)**
 - Fluorouracil - Ser ut som thymin, men har en fluoratom istället för en metylgrupp.
 - Thioguanine - En purin med en dubbelbunden svavelatom.
- **Pyrimidin/purin-nukleosidanaloger (mellersta bilden)**
 - Gemcitabin
 - Fludarabine

En nukleosid är en nukleotid, men utan fosfatgrupper. På grund av avsaknaden av fosfatgrupper kan dessa tas upp genom cellmembranet.

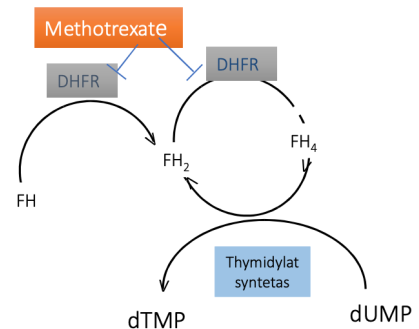
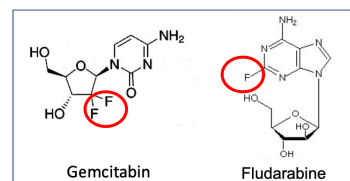
Ytterligare en antimetabolit är **metotrexat**, vilket är en folsyraantagonist som hämmar enzymet DHFR → folsyra kan inte donera metylgrupper till nukleotidsyntesen → minskad syntes av dTMP.

Läs mer epigenetisk terapi (DECITABIN)

Pyrimidin/purin nukleosider

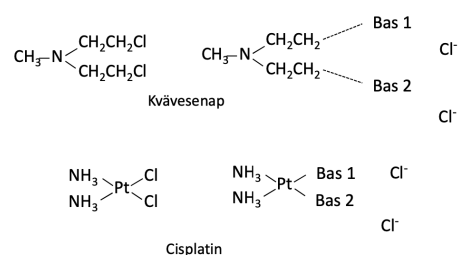


Pyrimidin/purin-nukleosidanaloger (exempel)



ALKYLERARE OCH PLATINAFÖRENINGAR

Dessa substanser binder kovalent direkt till baser i DNA → defekt DNA-replikation → inducerad celldöd. Som bilden till höger visar släpper två stycken kloridjoner, både från **kvävesenap** och **cisplatin**, vilket får dessa föreningar att kunna binda in till två baser. Baserna kan antingen vara lokaliserade på samma eller olika strängar. Denna interaktion är särskilt farlig för replikerande celler, då detta får replikationsgaffeln att sluta fungera.

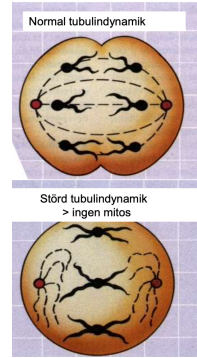


MIKROTUBULIHÄMMARE

Dessa läkemedel förhindrar mitosen, och kan göra det på två olika sätt:

- **Vincaalkaloider** - Binder till tubulin och hämmar dess polymerisering (bildandet av mikrotubuli) → ingen mitos.
- **Taxaner (taxol)** - Binder till tubulin och hämmar depolymerisering av mikrotubuli (stabiliserar det) → ingen mitos. I detta fall kan alltså mikrotubuli bildas, men kan inte dela på kromosomerna.

Dessa läkemedel ger biverkningar på andra delade celler, exempelvis i benmärgen → blodbildning.



PROTEASOMHÄMMARE

Vissa cancerceller karaktäriseras av en hög proteinsyntes, exempelvis multipelt myelom (uppstår i benmärgen) som uttrycker en stor mängd immunglobuliner. Ungefär 30% av alla nysyntetiserade proteiner är felveckade, och behöver därför brytas ned i av proteasomen för att undvika att de antingen aggregerar eller uttrycker toxiska effekter. Av denna anledning är proteasomen väldigt viktig för upprätthållandet av proteostasen, även i tumörceller. Proteasomhämmare, såsom **bortezomib** och **carfilzomib**, har således visat sig ha god effekt på multipelt myelom.

KEMOTERAPI OCH RESISTENS

En kemoterapeutisk behandling kan sällan slå ut en hel population av tumörceller, vilket leder till en ökad risk för resistensutveckling. Detta beror på att dessa cancerläkemedel (likt många andra läkemedel) har ett begränsat terapeutiskt fönster, vilket innebär att läkemedlet inte kan ges i hur stor dos som helst. Detta leder till att läkemedlet i många fall enbart dödar en konstant andel (%) av tumörcellerna, oberoende av antalet celler i tumören → stor sannolikhet att de tumörceller som överlever behandlingen prolifererar på nytt och samtidigt utvecklar resistens i en större del av tumören.

OBS! Många cancerläkemedel visar upp en god effekt under det första behandlingstillfället, för att med tiden sedan svara sämre och sämre.

EXEMPEL PÅ MEKANISMER SOM FRAMKOMMER VID RESISTENS

- **Ökat uttryck av membrantransportörer (ex. P-gp)** → pumpar ut läkemedlet från cellerna
- **Nedreglering av upptagstransportproteiner** → minskat upptag i cellerna
- **Minskad förmåga att konvertera prodroger till aktiv form**
- **Ökad metabolism** → minskad mängd aktivt läkemedel i omlopp
- **Ökat uttryck av enzymer som är involverade i DNA-reparation**

EXEMPEL PÅ BIVERKNINGAR AV KEMOTERAPI

- **Benmargshämning (svåraste biverkningen)** - De flesta cytostatika påverkar benmärgen → anemi, leukopeni (minskat antal cirkulerade vita blodkroppar), trombocytopeni (minskat antal trombocyter i blodet) etc.
- **Illamående och kräkningar** - Uppstår frekvent vid användning av cisplatin och alkylarerare.

- **Alopeci (håravfall)** - Uppstår av alkylare, vincaalkaloider, taxaner etc.
- **Diarré** - Framkommer av fluorouracil, metotrexat (antimetaboliter) etc.
- **Förstoppning** - Vanligt vid behandling med vincaalkaloider (mikrotubuli hämmare) etc.

TOPOISOMERAS – HALLMARK SAMT KEMOTERAPI MOT DET

VAD GÖR TOPOISOMERASET?

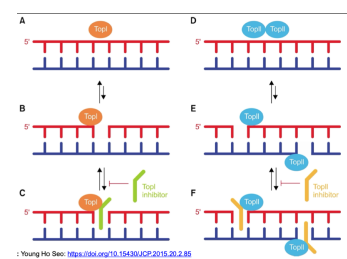
Topoisomeras är ett enzym förhindrar "super coils", vilket innebär att DNA lindas för tight innan det öppnas upp av helikaset under replikationen. Topoisomeraset lättar således på spänningen i DNA-molekylen genom att göra avbrott i socker/fosfat-diesterbindningarna, vilka de sedan förseglar igen innan de släpper DNA. Det finns två olika typer av topoisomeras:

- Topoisomeras typ I - Minskar spänningen i en DNA-kedja
- Topoisomeras typ II - Minskar spänningen i båda DNA-kedjor

TOPOISOMERAS INHIBITOR

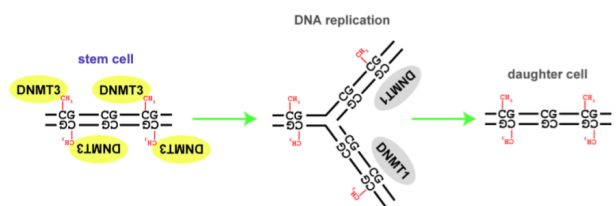
Denna behandlingsmetod tillhör **kemoterapi**. När topoisomeraset gör avbrott i DNA kan dessa hål blockeras av topoisomeras inhibitorer, vilka förhindrar topoisomeraset från att laga dem. Dessa avbrott registrerar cellen då som en DNA-skada → apoptos induceras. Ett smart sätt att angripa cancerceller på.

OBS! Dessa inhibitorer binder även in till friska celler och påverkar dess, men tanken bakom inhibitorerna är att cancerceller replikeras fortast och oftast → tar upp inhibitorerna först och går in i apoptos.

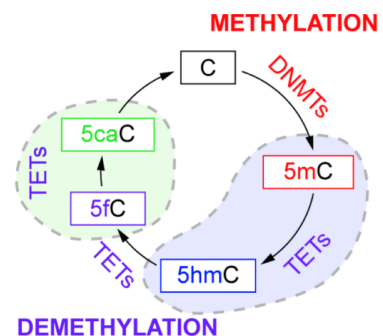


EPIGENETISK TERAPI – HALLMARK OCH KEMOTERAPI EMOT DET

DNA metylering innebär att en metylgrupp binder in till en cytosin, och därmed tystar en gen. 70-80% av alla CpG är metylerade vilket gör ometylerade CpG-öar väldigt ovanliga. Enzymerna som metylerar verkar i olika faser och under olika förhållanden:



- **De novo ("från nya") metyltransferas**
involverar DNMT3-familjen. Dessa har kapacitet att metylera ometylerat DNA och därmed viktiga i vår tidiga utveckling.
- **Maintenance metyltransferas, DNMT1**, nyttjas efter DNA replikation för att kunna bibehålla (ärva) metyleringsmönster även efter en celledelning. För att DNMT1 skall kunna verka måste DNA:t vara Hemi-metylerat, dvs att ena strängen redan är metylerad så enzymet kan följa dess mönster. Detta är möjligt eftersom det är en semikonservativ replikation.



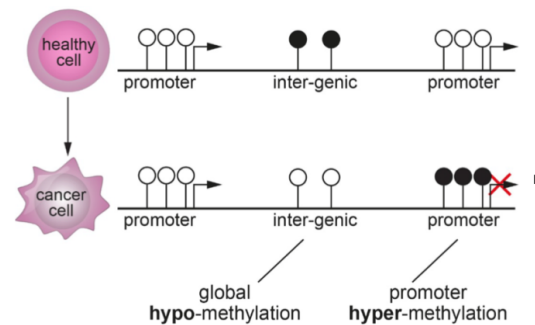
TET-enzymerna som beskrivits tidigare har motsatt effekt från DNMT1. Dess gen är ofta translokerad i många cancerceller.

METYLERING I CANCER

Förändrad DNA metylering är en universell molekylär karakteristika för alla cancer. Det finns två hypoteser kopplat till detta:

Promoter hypermetylering - associerat med att tysta gener

Hypermetylering innebär att man adderar metylgrupper till histoner och DNA, vilket oftast görs vid CpG-rika regioner. Dessa regioner är ofta belägna i promotorregioner, vilket innebär att om dessa metyleras, så kommer i regel hela genen att tystas. Har man en heterozygot uppsättning av alleler så nyttjas metylering av cancerceller för att tysta den fungerande omuterade allelen (exempelvis Brca1).



Intergenic hypometylering - aktivering av repetitiva element

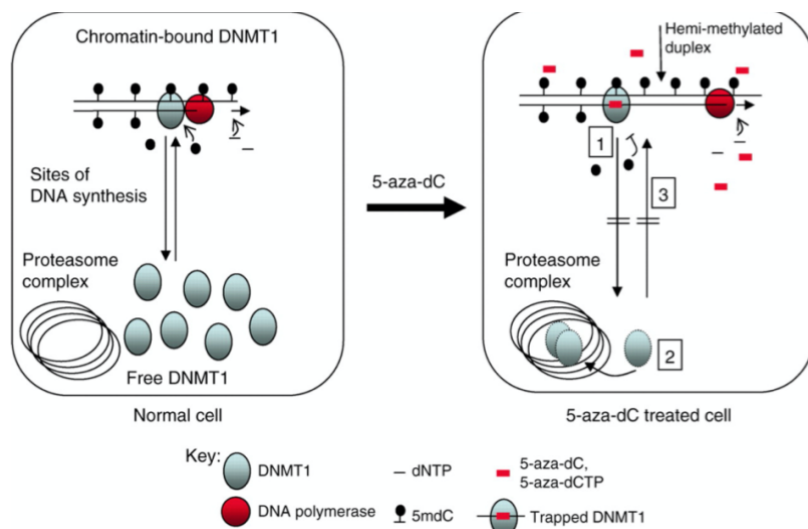
Genom att inte metylera intergenic regions (icke-kodande DNA) sker en aktivering av repetitiva element som kan störa transkriberingen av närliggande gener.

Läs mer om TET och IDH under *Caretaker genes och Phenocopies*

DECITABIN

Decitabin är ett exempel på **en nukleosidanalog**, medicinerna som utgör majoriteten av kemoterapi (cellgiftsbehandlingar). Detta verkar genom att angripa metyleringar i cancer genom att inhibera DNA metyltransferas.

Nukleosider är uppbyggda på ett liknande sätt som nukleotider och kan på så sätt inkorporeras i växande DNA strängar.

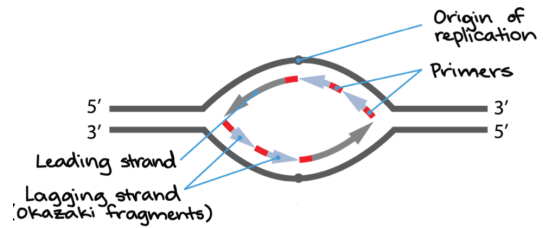


På bilden kan vi observera hur 5-azacytidine (nukleosiden i decitabin) binder in till DNMT1 som ej kan frigöras och kommer därmed inte kunna metylera. DNMT1, är som tidigare nämnt, beroende av hemi-metylerat DNA vilket gör decitabin beroende av att cellerna delar på sig för att fungera. Detta innebär att celler som delar sig väldigt fort, såsom cancerceller gör, kommer att kunna angripas effektivare. Detta medför självklart bieffekter till andra vävnader vars celler delar sig väldigt fort, såsom håret → många tappas håret under kemoterapi.

Nukleosidanaloger kan nyttjas som medicin inom många olika fält, såsom att bromsa HIV samt hepatit B.

TELOMERER – HALLMARK OCH KEMOTERAPI MOT DET

I slutet på kromosomerna finns repetitiva sekvenser kallat telomerer, vilka fungerar som buffert. Vid replikation av DNA sker det i riktning 5' till 3', vilket gör att Lagging Strand kommer att replikeras åt motsatt håll. För att möjliggöra detta används en RNA-primer, så att lagging strand byggs upp av okazaki fragment. Vid varje delning kommer lagging strand att förkortas lite för att primern ej kan fästa längst ut → innebär att våra telomerer blir kortare och kortare. Efter cirka 50 delningar når vi **hayflick gränsen**, vilket gör att cellen går i senescens.

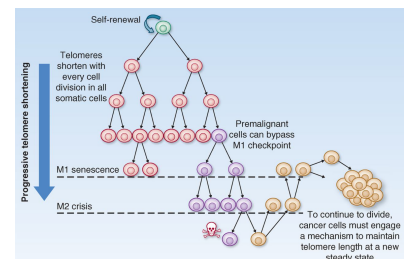


TELOMERAS KOMPLEXET OCH DESS FUNKTION

I stamceller och könsceller har vi däremot komplexet telomeras som ser till att telomererna inte blir kortare vid delning.

Telomeras består av proteinkomponenten TERT som är bundet till en RNA-sekvens.

Det räcker alltså inte för cancercellerna att kringgå cellcykelns checkpoint, utan de måste dessutom hitta ett sätt att undgå hayflick gränsen, vilket de gör genom att uppreglera TERT.

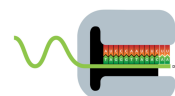


TERT

TERT uppregleras genom att två mutationer uppstår i promotorn för TERT-genen, där transkriptionsfaktorn ETS binder in. ETS binder då in och aktiverar TERT-genen. I promotorn har vi en så kallad **E-box** som binder in MAD. MAD har till uppgift att inhibera syntesen av TERT. Om mutation i promotorn uppstår kan **MAD** längre inte binda in, vilket möjliggör transkriptionen av TERT.

TELOMERAS INHIBITOR

Det man nu vill är att förhindra cancercellerna att kunna nyttja sitt telomeras, vilket man gör genom att medicinera med en telomeras inhibitor kallas Imetelstat. Medicinen binder till RNA molekylen som skall förlänga telomeren och omöjliggör proceduren. Ej etablerat ännu, på grund av dess bieffekter på stam- och könsceller.



ANGIOGENES – HALLMARK OCH KEMOTERAPI EMOT DET

För att tumörer skall kunna fortsätta växa kräver de näring (precis som vanliga celler), vilket de får till sig genom att nybildade blodkärl. Utvecklingen av nya kärl kallas angiogenes och sker från **redan existerande kärl**. Detta kan tumörer utnyttja på flera sätt:

- Näring för tillväxt och överlevnad
- Utbyte av syrgas och koldioxid
- Ökad möjlighet att metastasera



Tidigt i tumörutvecklingen induceras ingen angiogenes, vilket beror på att p53 uppreglar syntesen av anti-angiogener i hopp om att begränsa tumörens utveckling. När de första blodkärlen börjar växa in i tumören kallar man det för en **angiogenic switch**. För att stimulerar angiogenesen utsöndrar tumörer pro-angiogena

faktorer, såsom tillväxtfaktorn VEGF (vascular endothelial growth factor). Vid ökade nivåer pro-angiogena faktorer skapas en obalans mellan dessa och de anti-angiogena faktorerna → angiogenic switch.

VARFÖR UPPSTÅR SWITCHEN?

- **Hypoxi** - HIF är ett protein som känner av syrgasnivåer i cellen, då det hydroxyleras i närvaro av syre (i normalfallet) av speciella enzymer, bland annat VHL som är ett ubiquitin-ligas → nedbrytning av proteasomen. Vid låga nivåer syrgas i cellen hämmas hydroxylaserna, vilket får följden av att HIF slutar att ubiquitineras. Detta skapar stigande nivåer av HIF intracellulärt, vilket aktiverar transkriptionen av bland annat pro-angiogena faktorer (VEGF). Läs mer under **Patologisk hypertrofi**.
- **Mutationer i tumörsuppressorer** - p53 stimulerar uttrycket av anti-angiogena faktorer samt hämmar uttrycket av pro-angiogena faktorer. Vid mutation i genen blir resultatet det omvända.

ANGIOGENESENS EFFEKTER PÅ TUMÖRTILLVÄXTEN

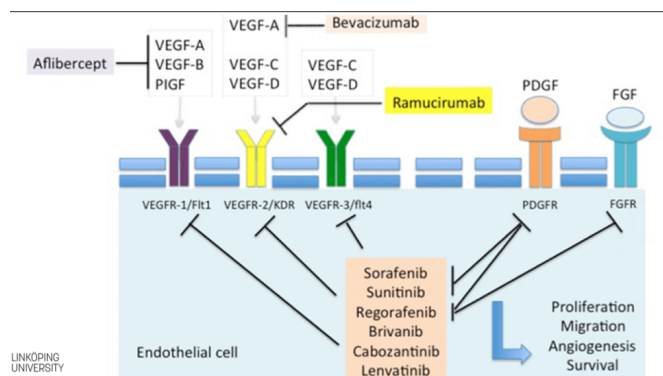
- **Perfusion bidrar med näring och syre** - Icke syresatta eller näringsförsedda celler går i nekros → tumören skulle inte kunna växa.
- **Underlättar metastasering** - Nybildade kärl har speciella utseenden, vilket gynnar metastaseringsprocessen. De är något utvidgade och lackande, samtidigt som de har ett slumpmässigt anslutningsmönster. När tumörceller ges tillgång till dessa onormala kärl så kommer tumörcellens möjligheter att metastasera öka.

OBS! Desto mer blodkärlen som växer in i tumören, desto mer VEGF kommer att utsöndras.

ANGIOGENES INHIBITOR

Denna typ av behandling är viktigt att få innan tumören har växt till sig och kan göras på två vis.

1. Tillsätter antikroppar som binder in direkt till tillväxtfaktorerna eller dess bindningsställe vilket blockerar VEGF som tumören utsöndrar för att få effekt.
2. Tyrosinkinasinhibitorer som förhindrar signalvägen inuti cellen.



IMMUNTERAPI

Tumörceller kan bära på 100-tals mutationer i proteinkodande sekvenser, men ändå inte kännas igen av immunsystemet. Hur kommer detta sig?

Det har även tagits fram ett antal antikroppar som binder till vissa celltyper/cancerceller:

- **Rituximab** - Binder till membranantigenet CD20, vilket hittas både på normala och maligna B-lymfocyter.
- **Alemtuzumab** - Binder till glykoproteinet CD52, vilket även detta hittas på både normala samt maligna B- och T-lymfocyter.

Eftersom dessa antikroppar även binder in till normala lymfocyter, kommer båda ovanstående läkemedel att leda till biverkningar.

Nedanstående är en jämförelse med att använda antikroppar som LM istället för andra små molekyler;

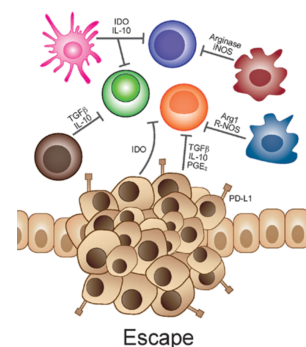
Fördelar: Har en ökad selektivitet mot target och har en lång halveringstid

Nackdelar: Ingen biotillgänglighet, höga tillverkningskostnader, begränsad hållbarhet.

KRINGGÅ IMMUNFÖRSVARET

Människans immunförsvar reagerar snabbt vid okända antigener som uttrycks på alla celler. Speciellt T-cellerna kommer att uppmärksamma detta och har möjlighet till att eliminera de skadliga cellerna. Cancerceller agerar enligt följande för att undgå immunförsvaret:

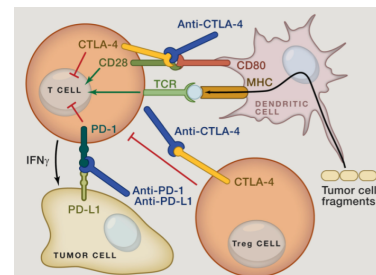
1. Producerar höga koncentrationer av Treg som dämpar immunsvaret, vilka uttrycker CTLA-4.
2. Producerar cytokiner (ex IL-10 och TGF- β) som verkar på samma vis (gäller även stromat som ligger kring tumörcellerna)
3. Uttrycker ligander som binder till T-cellers receptorer som tystar dem.
 - a. Liganderna PD-L1 på tumörcellerna (förhindrar aktivering)
 - b. CTLA-4 på Treg



CHECKPOINT INHIBITOR THERAPY

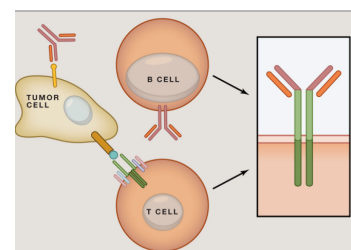
För att behandla tumörer som kringgår immunförsvaret, kan man se till att liganderna CTLA-4 och PD-L1 inte har möjlighet att tysta T-cellerna. Detta görs genom att tillsätta antikroppar, kallade **ipilimumab**, som motverkar inaktivering av T-cellerna → omöjliggöra för dem att binda in till T-cellernas receptorer.

Denna upptäckt belönades med Nobelpriset år 2018, men har på senare år nu visat sig att cancerceller utveckla nya metoder att kringgå detta.



CAR T-CELL THERAPY

CAR T-cell terapi är en behandling som utgår ifrån att man modifierar T-celler för att mer effektivt angripa tumörcellerna. Detta görs genom att isolera T-celler från patientens, eller en donators, blod för att sedan genetiskt anpassa T-cellerna till att angripa antigener som uttrycks på de specifika tumörcellerna. Dessa receptorer kommer då funka som "levande medicin" genom att cytotoxiskt bryta ned tumörceller de kommer i kontakt med.

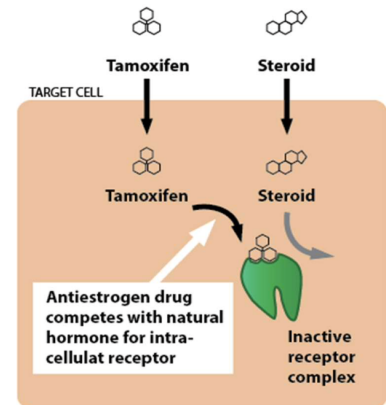


Fördelen med Car T-cell therapy är att man kan skräddarsy en behandling till en patient, däremot är det väldigt dyrt.

HORMONTERAPI

Bröstcancerceller är ofta beroende av östrogen för deras proliferation, vilket har fått oss att utveckla läkemedel som kompetitivt hämmar östrogenreceptorn. Det skapas då ett inaktivt receptorkomplex, som inte förmedlar de signaler som dessa östrogenberoende celler behöver → kan inte proliferera. Ett exempel på ett sådant läkemedel är **tamoxifen**, vars struktur liknar östrogen och just är en kompetitiv hämmare → blockerar östrogenreceptorn.

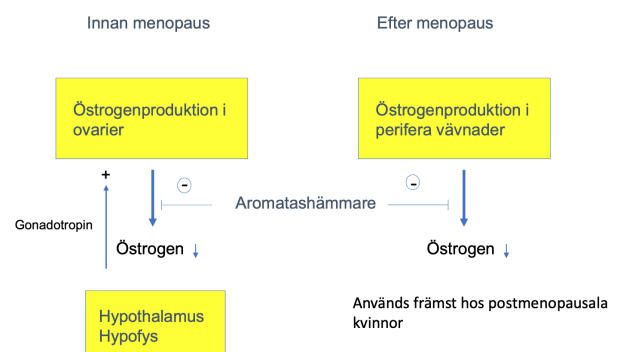
Anmärkningsvärt är att tamoxifen även har agonistiska effekter i bland annat benvävnad, som således även kan motverka osteoporos (benskörhet). Dock kan tamoxifen även påverka uterus → hypertrofi, vilket är problematiskt.



AROMATASHÄMMARE

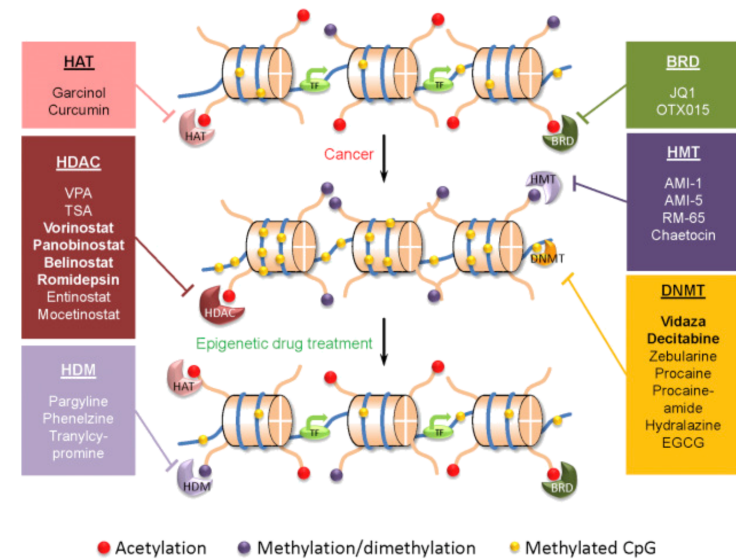
Aromatas är det enzym som i ovarierna omvandlar testosteron till östrogen. En aromatashämmare leder således till en minskad produktion av just östrogen, vilket i sin tur leder till en minskad proliferation hos de östrogenberoende tumörcellerna. Dessa läkemedel används dock främst hos postmenopausala kvinnor, vilket bilden till höger förklarar varför.

Innan menopausen finns det en negativ feedback loop, som vid minskade östrogennivåer stimulerar hypofysen och hypothalamus att utsöndras ännu mer gonadotropiner (stimulerande effekt på östrogenproduktionen). Detta skulle således leda till att östrogenproduktionen förr eller senare ändå skulle stiga.



ANDRA EPIGENETISKA BEHANDLINGAR

Det finns många andra epigenetiska behandlingar som kan angripa genuttrycket genom att modifiera histoner exempelvis. Detta inkluderar följande:



PRECISERAD MEDICIN

Människans celler har ett genom, men alla celltyper i kroppen har olika epigenom. Om vi har en tumör i kroppen växer dess celler fort, vilket också medför att många tumörceller hinner dö. När tumörceller dör kommer det att finnas i vårt blod vilket gör att vi kan isolera CF-DNA (cell-free) → flytande DNA. Därefter kan vi söka efter mutationer i dessa celler (ex p53 mutation), så kommer vi förmodligen ha i en tumörogen växt i kroppen. Så på så sätt kan vi detektera var tillväxten börjar. Än så länge fungerar inte detta, men det tros vara nyckeln till mer preciserad behandling i framtiden.

KIRURGI

Icke att förglömma är att mycket kan behandlas genom att operera bort tumören.

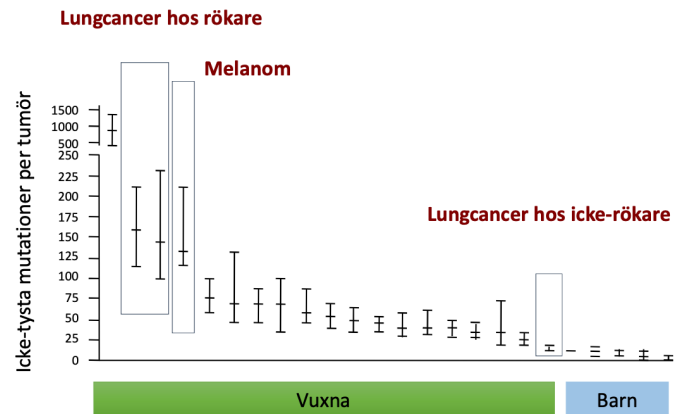
MÅLRIKTAD TERAPI (TARGETED THERAPY)

Hit räknas de läkemedel som specifikt riktar sig mot muterade proteiner som driver proliferationen av cancerceller, och eftersom dessa då specifikt binder/hämmar cancerspecifika proteiner → borde inte ge några biverkningar, vilket i sin tur ger dessa läkemedel större terapeutiska fönster.

MUTATIONER I CANCERCELLER

Antalet mutationer i en cancercell kan variera stort mellan olika cancertyper. Barn tenderar att endast ha 4-5 mutationer, medan vuxna allmänt har mellan 50-100 (kan dock sträcka sig upp emot 1000). Flest mutationer hittar vi i lungcancer hos rökare eller i melanom. En intressant skillnad är differensen i antalet mutationer i en lungcancer mellan rökare och icke-rökare.

Det är högst osannolikt att det krävs 50 mutationer för att transformera en normal cell till en cancercell, vilket tyder på att många av mutationerna hos vuxna endast är **passengermutationer**. Sannolikt krävs det 4-5 mutationer för att framkalla cancer, vilka är de mutationer vi kallar för **drivers**.

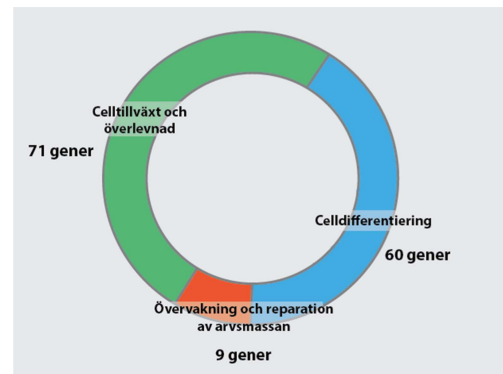


OBS! Anledningen till att barn har så få mutationer vid cancerutveckling beror på att de inte "haft tid" att utveckla så många passengermutationer.

DRIVERS

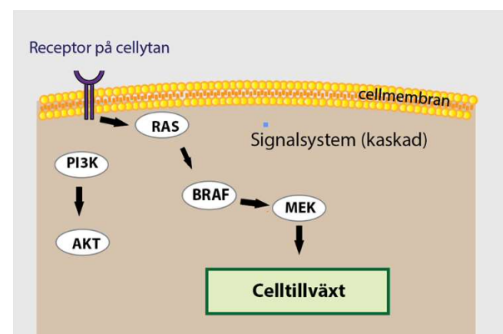
Vissa gener tenderar att ofta vara muterade i cancerceller, vilka därför med stor sannolikhet har en avgörande roll för cancerutveckling. Det är dessa mutationer vi kallar drivers. Det finns omkring 140 stycken upptäckta drivers, där dessa mutationer tenderar att uppkomma i gener kopplade till:

- Celltillväxt och överlevnad
- Celldifferentiering
- Övervakning och reparation av arvs massa



HUR MÅNGA OLIKA LÄKEMEDEL BEHÖVER VI? 140 st?

Ett argument till att vi behöver **färre än 140st läkemedel** är att cancergener kan delas in i olika klasser, sett till i vilken signalväg de är aktiva. Mutationer i BRAF-genen förekommer ytterst sällan i samma tumörceller som har mutation i RAS. Detta då det inte finns någon selektionsprocess för cellen att behöva mutera två gener i samma signalväg. Detta tyder på att det kanske skulle räcka med ett läkemedel per signalväg, som i detta fall skulle blockera MEK.



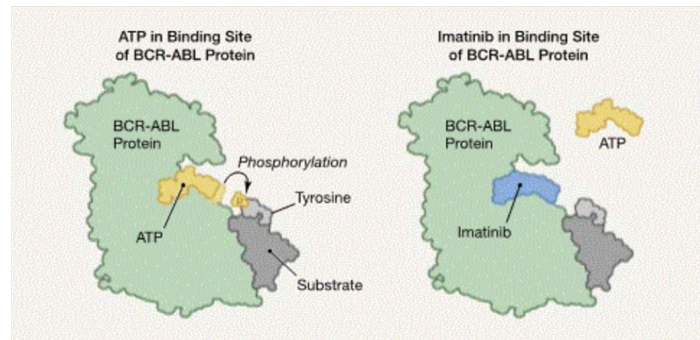
Ett argument emot, som tyder på att vi behöver **fler än 140 st läkemedel** är att tumörceller snabbt utvecklar resistens mot ett visst läkemedel, vilket tvingar oss till att börja behandla med något annat. En sjukdom kanske behöver ett flertal snarlika läkemedel som kan ersättas mot varandra vid utvecklande av resistens.

EXEMPEL PÅ SJUKDOMAR DÄR MÅLSPECIFIKA LÄKEMEDEL (TARGET THERAPY) ANVÄNDS

KRONISK MYELOISK LEUKEMI (KML)

Detta sjukdomstillstånd uppkommer vid en kromosomtranslokation mellan 9 och 22 → "Philadelphia kromosomen", där generna Bcr och Abl blir grannar och således bildar en fusionsgen. Abl-kinaset är inblandat i celltillväxt, och dess aktivitet kan i normalfallet både skruvas upp och ned utifrån cellens behov. Denna nya gen skapar ett konstitutivt aktivt tyrosinkinase, som således konstant sänder

proliferationssignaler. Detta kinase kan dock hämmas av läkemedlet Imatinib, vilket i sin tur hämmar tillväxt och överlevnad av leukemiceller. Likt bilden till höger visar så kan inte Bcr-Abl-kinaset fosforylera sin tyrosindel, efter att Imatinib bundit in.

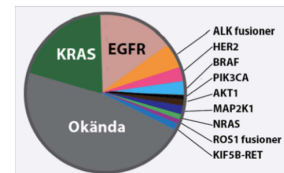


- Resistens utvecklas dock snabbt mot Imatinib, vilket beror på att Bcr-Abl kinaset förändrar sin struktur (genom mutationer), vilket har tvingat oss till att utveckla nya, snarlika läkemedel. Detta är en förklaring till motargumentet under föregående rubrik.

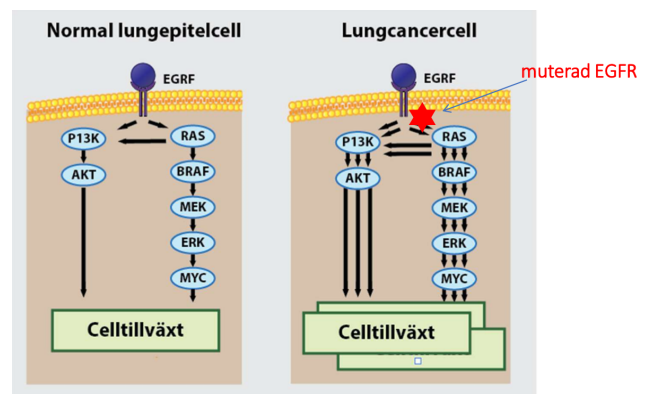
OBS! 51% av patienterna får återfall inom 2 år om man avbryter Imatinibbehandlingen, men vid återupptagen TKI-behandling (tyrosinkinaseinhibitor) uppnår de allra flesta på nytt molekyllär respons. Ett avbrytande av Imatinib-behandling är möjligt för de patienter som under en längre tid varit i stabil molekyllär remission (PCR har INTE uppvisat mutationen i blodet).

LUNGCANCER

Lungcancer kan vara av fyra olika typer; skivepitel (skvamos), storcelliga, småcelliga och adenocarcinom. Vanliga drivers som är lungcancerassocierade är **KRAS** och **EGFR**, vilka båda två är viktiga för cellproliferation. Andra förekommande drivers är även **HER2** och **BRAF**.



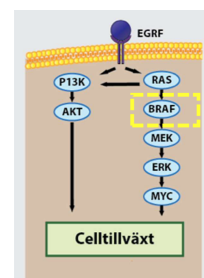
I en fungerande lunga binder **EGF-receptorn** EGF, som i sin tur stimulerar P13K och RAS (olika signalvägar). Både dessa proteiner är kinaser som fortsätter signaleringen nedströms tills dess att en signal om celltillväxt når transkriptionsfaktorer. Vid en mutering i EGFR kommer denna nu att konstant stimulerar P13K och RAS, vilket leder till kontinuerlig stimulans av celltillväxten.



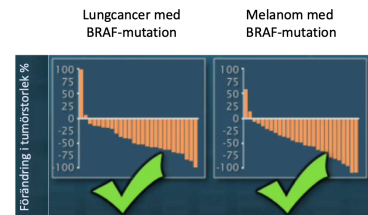
Mot just denna mutation har dock ett läkemedel utvecklats, som specifikt binder till muterade EGFR och hämmar signaleringen nedströms.

Tumörcellerna, som blivit beroende av en konstant tillväxtestimulering, kommer i detta läge nu att börja inducera apoptos. EGFR-hämmare visar mycket god initial klinisk effekt vid lungadenocarcinom, MEN de flesta patienterna får återfall som inte har så goda överlevnadsmöjligheter.

Mutation i BRAF är inte fullt lika vanligt som i EGFR vid lungcancer, men räknas ändå som en av de vanligaste mutationerna. Det är betydligt vanligare i bland annat melanom, där ⅓



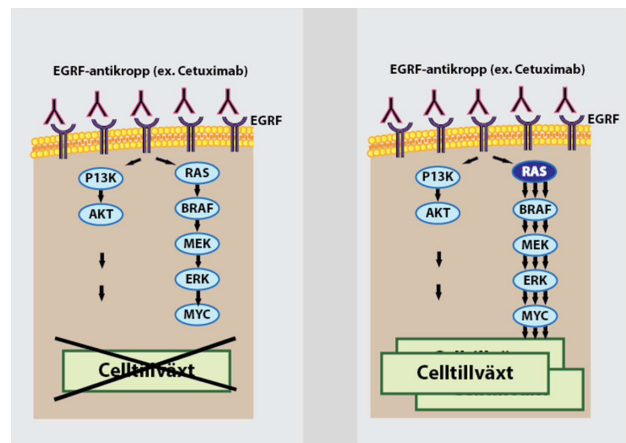
av alla melanom har en mutation i BRAF. BRAF är kinaset nedströms RAS i den signalvägen, och för dessa mutationer finns det ett läkemedel kallat **Vemurafenib** (BRAF-hämmare). Bilden till höger visar ett vattenfallsdiagram som beskriver förändringen av tumörens storlek under behandlingstiden, vilket i detta fall visar att BRAF-hämmare har god effekt både på lungcancer och melanom.



Ett vanligt problem som dock uppstår vid lungcancer, men även andra sjukdomar, är att det sker en uppreglering av signaler från andra receptorer. Vid en EGFR-mutation, som sedan behandlas, kommer andra receptorer kunna ta över signaleringen från EGFR. Ett exempel på en sådan receptor är c-Met, som på så vis fortsätter driva celltillväxt-signalerna nedströms. Detta skiljer sig exempelvis från KML, där sjukdomen är HELT beroende av Bcr-Abl. Av denna anledning är lungcancer svårare att bota än KML.

KOLOREKTALCANCER

I kolorektalcancer är **EGFR ofta överuttryckt** → **ökad aktivitet av både P13K- och RAS-vägen**, vilket leder till en ökad tillväxt. Detta behandlas genom monoklonala antikroppar mot EGFR, vilket är en fungerande behandling så länge RAS inte är muterat. Vid mutation i RAS kommer inte cancer att svara på antikroppsbehandlingen, då RAS (av mutationen) är konstitutivt aktiv nedströms receptorerna i membranet. Eftersom receptorerna sitter uppström kommer en inhibering här inte påverka det muterade RAS. Detta är kliniskt viktigt, då behandling av antikroppar inte påbörjas förens tumörcellerna har undersökts för mutation i RAS eller inte.



OVARIALCANCER

Ungefär 50% av alla ovariecarcinom är defekta i BRCA 1/2, vilket är en tumörsuppressorgens om hjälper till att reparera DNA-skador, eller i homolog DNA rekombination, vilket är en reparationsmekanism för att reparera dubbelsträngsbrott. Dessa typer av tumörer är känsliga för behandlingar med DNA-skadande läkemedel, såsom cisplatin, samt även för PARP-hämmare. Vid ett enkelsträngsbrott i DNA repareras detta vanligtvis av cellen, men vid närvaro av PARP-hämmare bildas istället ett dubbelsträngsbrott. Detta brukar i normalfallet också repareras av friska celler, men för tumörceller med mutation i BRCA 1/2 eller homolog DNA rekombination kan inte denna skada repareras → celledöd.

CANCER KAKEXI

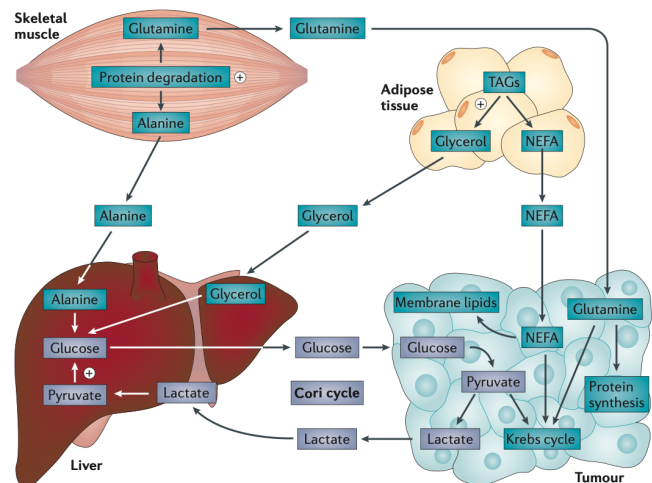
VANLIGA SYMTOM VID KAKEXI

- **Gradvis eller kraftig vikttnedgång** - Främst till följd av katabolism av fett och skelettmuskulatur.
- **Inflammation**

- Påtaglig försvagning
- Fysisk- och psykisk trötthet
- Anorexi
- Anemi

En malign tumör kan orsaka systemisk påverkan, där det är viktigt att kunna **särskilja på symtom och syndrom**.

- **Symtom** - Kan vara en enda sak (ex. feber)
- **Syndrom** - En samling av flera symtom som härrör från samma orsak.



PATOFYSIOLOGI

Cancer kakexi är en multifaktoriell och ofta irreversibelt syndrom som drabbar ungefär 50-80% av alla cancerpatienter, beroende på vilken tumörtyp de drabbats av. Cancerkakexi leder till betydande **viktneidgång** framförallt från skelettmuskulatur och kroppsfett. Upp till 20% av alla dödsfall kopplade till cancer beror på just kakexi, och just därför är det viktigt att förstå de underliggande mekanismerna.

Med multifaktoriellt menar man att det sker förändringar i många metaboliska processer, i många olika vävnader och organ.

Cancerrelaterad kakexi orsakas i ett försök av kroppen att upprätthålla homeostas. Närvaron av tumören, i kombination med patientens behandling (kemoterapi eller radioterapi) ställer stora krav på kroppen för att åstadkomma en homeostatisk reglering, vilket görs genom metabola förändringar. Hos cancerpatienter är kaloriförbrukningen och basalmetabolismen (ämnesomsättningen) ungefär densamma, eller ibland till och med något ökad på grund av tumören. Detta trots ett minskat kaloriintag = motsatsen till vad som sker vid adaptiv respons på svält, där metabolismen går ned. Detta är anledningen till varför cancerpatienter med normalt födointag ändå kan förlora vikt och lida av kakexisymtom.

Muskelatrofi

Vid cancerkakexi så bryts en stor del muskelmassa ned som beror på en mängd faktorer. En utav dem är att tumören utsöndrar pro-inflammatoriska cytokiner såsom IL-1, IL-6 och TNF-alfa, men även PIF (proteolys-inducerade-faktor). Dessa signalmolekyler aktiverar intracellulära signaler som i sin tur leder till:

- Ökad protein degradering via NF-κB
- Ökad produktion av ubiquitin ligaser
- Ökad caspas-aktivitet → ökad apoptos
- IGF 1 som aktiverar mTOR kommer att minska vilket gör att proteinsyntesen minskar → samt att autofagi ökar

Den generella degraderingen av proteiner kommer att leda till ett stort utflöde av aminosyror, och då framförallt **alanin**, till levern (se första bild under huvudrubrik). Aminosyrorna nyttjas för att upprätthålla glukoneogenesen och syntesen av akutfasproteiner.

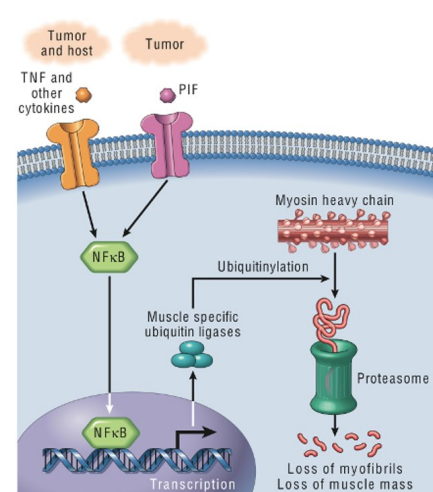


Figure 9-23 Mechanisms of cancer cachexia. Proteolysis-inducing factor (PIF) produced by tumors and TNF and other cytokines produced by host immune cells activate NF-κB and initiate the transcription of the muscle-specific ubiquitin ligases. These ligases in turn ubiquitinate structural components of myofibrils such as myosin heavy chain, leading to their degradation by the proteasome.

Även **glutamin** kommer att transporteras från muskeln och används i tumören som kvävedonator till syntesen av både protein och DNA. Glutaminet kan dessutom oxideras i tumören och gå in i citronsyracykeln för att ombildas till energi.

Fettvävnadsförlust

Den kontinuerliga förlusten av vit fettvävnad är ett resultat av tre processer som sker jämsides.

- Ökad lipolytisk aktivitet → frisätter glycerol och fria fettsyror. Associerat vid aktivering av hormonkänsligt lipas → används i glukoneogenesen
- Nybildning av fettvävnad minskar som resultat av minskad tillgång till fettsyror och glycerol, "
- Minskad aktivitet av lipoprotein lipas (hämmas av TNF-alfa) vilket gör att klyvningen av TAG minskar, vilket i sin tur leder till att absorptionen av fett minskar.

Tumödriven inflammation

Systemisk inflammation är en Hallmark för cancerpatienter. Det är den inflammatoriska responsen som är den drivande kraften bakom de metaboliska förändringarna som observeras i cancer. Både tumörcellerna och aktiverade immunceller frisätter cytokiner, kemokiner och övriga inflammatoriska mediatorer. Inflammation kan mätas genom CRP, vilket är ett mått på den sammantagna cytokinfrisättningen (speglar således inflammationen).

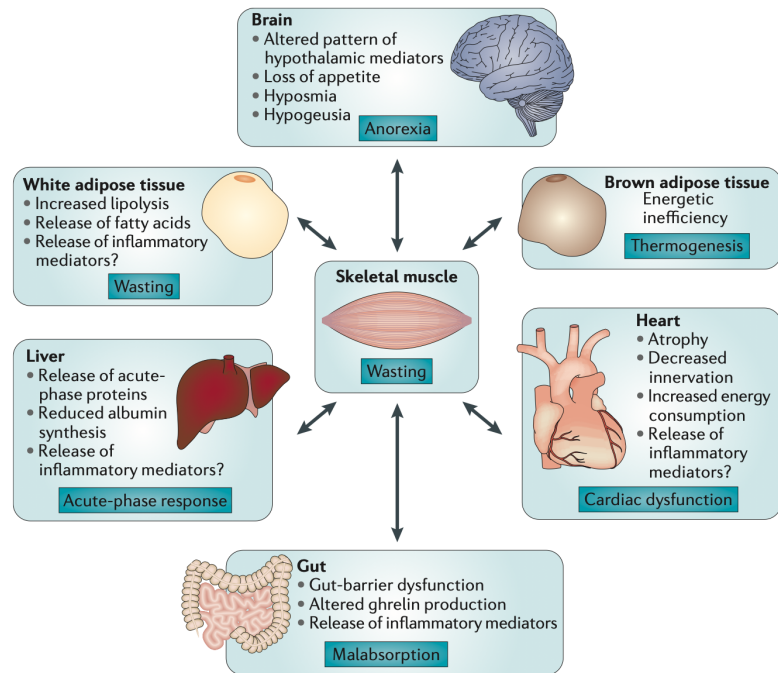
Av alla cytokiner som frigörs kommer vissa, bland annat, stimulera till ökad produktion av **hepcidin** i levern. Heparidin har funktionen att inhibera ferroportin, vilket är den transportör som transporterar ut järn från de celler där de lagras (ex. enterocyter och makrofager). Vid inaktivt ferroportin kommer järnet blir "instängt" och därmed inte kunna vara tillgängligt vid erytropoesen → färre erythrocyter bildas på grund av att de inte kan bilda hemoglobin. Detta leder i sin tur till både anemi och trötthet.

Warburgeffekten

Det som sker ibland viss cancer är att metabolismen ställs om vilket gör att fermentation (anaerob glykolys) blir den främsta metoden att utvinna energi över aerobisk glykolys. Detta leder till en energi negativitet då den anaeroba glykolysen inte alls utvinner samma mängd energi. Läs mer under *Tumörcellens metabolism*.

Kakexi är en multi-organ syndrom

Trots att skelettmuskulatur bidrar med mer än 40% av kroppsvikten och är till synes den vävnad som går till förlust, så bidrar många andra organ till kakexi processen. Hjärnan exempelvis är i kontroll över aptit, smak och doft och är därmed delvis ansvariga för anorexin cancerpatienter ådrar sig. Dessutom kommer den inflammatoriska responsen också vara aktiverare av anorektiska-pathways. NPY produktionen kommer att minska vilket leder till minskad aptit. Se fler effekter på bilden.



BEHANDLING

I dagsläget saknas en effektiv och etablerad behandling. De insatser som ändå görs är bland annat motion, dietistkontakt och adekvat lindring av smärta, oro och illamående etc. Fokus ligger på palliativt omhändertagande med särskilt fokus på god livskvalitet.

PARAMALIGNA SYMPTOM/SYNDROM

Maligna tumörer kan orsaka paramaligna symtom, vilka är reaktionen som inte direkt har med tumören att göra. Till detta inkluderas således konsekvenser av cancer som inte beror på lokal tumörtillväxt, utan istället medieras av hormoner, cytokiner eller en immunologisk reaktion. Ibland är paramalignt symtom det tidigaste symptomet på cancer.

I dessa fall orsakar tumören lokala skador på cell- och vävnadsnivå, vilket skapar en systemisk reaktion.

Paramaligna symtom är **indirekta tecken på att en malign tumör uppstått, där systemiska reaktioner uppstår trots att tumören befinner sig i en specifik vävnad**. De allra flesta tumörer uppvisar någon form av paramalignt symtom.

MEKANISMER

IMMUNOLOGISKA PARAMALIGNA SYMPTOM

Mekanismen bakom detta är att immunsystemet interagerar med antigen på "friska celler", som liknar de antigen som finns på tumörcellerna. Immunsystemet har då bildat antikroppar mot antigen, som både finns på de elakartade och kroppsegna cellerna.

ENDOKRINA PARAMALIGNA SYMTOM

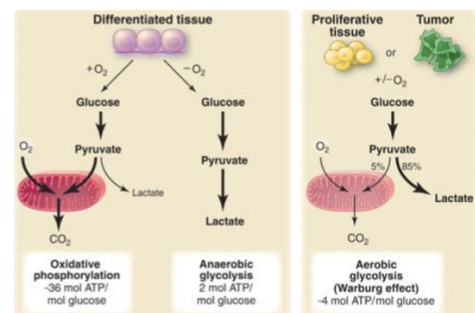
Tumörcellerna utsöndrar hormoner, vilket kan ge upphov till flera hormonella rubbningar.

OSPECIFIKA

Dessa är betydligt vanligare än de två ovanstående, vilka i sin tur är relativt ovanliga. Inflammation orsakad av cancer → utsöndring av cytokiner, vilket leder till systemiska inflammatoriska symtom. Till dessa symtom hör bland annat anemi, vikttnedgång, feber och trötthet.

TUMÖRCELLENS METABOLISM

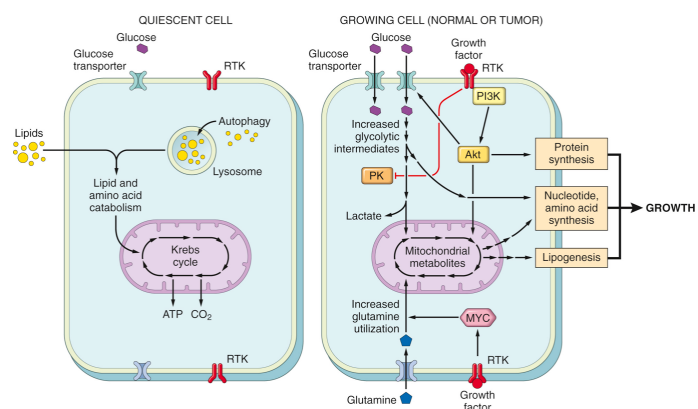
Normalt sett är glukos den vanligaste energikällan för celler. I närvaro av syre sker oxidativ fosforylering, medan det i frånvaro produceras laktat (genom anaerob glykolys). I tumörceller (och i tillväxande vävnad) övergår istället den största andelen pyruvat (i slutet av glykolysen) till laktat, trots god tillgång på syre. Att tumörceller bildar laktat, trots närvaro av syre kallas för **Warburg-effekten**. Kring Warburg-effekten kretsar en rad olika frågor, såsom varför tumörcellerna väljer att använda anaerob glykolys (genererar 2 ATP/glukos) istället för att genomgå oxidativ fosforylering (genererar 36 ATP/glukos).



En tumörcells viktigaste uppgift är att växa, proliferera och bilda nya dotterceller. Glykolysen förses snabbt delande tumörceller med viktiga intermediärer, vilka behövs för att syntetisera cellulära beståndsdelar. Hit hör bland annat DNA, proteiner och organeller, vilka alla är väsentliga för att en cell ska kunna delas till två dotterceller. Den oxidativa fosforyleringen bidrar INTE till några intermediärer, då dessa istället omvandlas till vatten och koldioxid → andas ut. Det laktat som bildas rör sig till hepatocyterna i levern, där det återigen görs om till glukos via glukoneogenesen → kan återanvändas i kroppen. Denna process kallas för Cori cykeln.

För att Warburg-effekten ska uppstå behöver det ske en metabol omprogrammering i de tillväxande och maligna cellerna. Denna omprogrammering görs, inte så konstigt nog, av de signalkaskader som hittas nedströms tillväxtfaktor-receptorerna. När den "normala" cellen slutar växa återgår metabolismen till vanlig aerobisk glykolys, vilket inte är fallet för cancerceller. På grund av mutationer i onkogener och tumörsuppressorgener känner celler aldrig av att den vuxit klart → bibehåller Warburg-effekten.

Ett exempel på en signalväg som påverkas vid metabol omprogrammering är PI3K/AKT-vägen, vilken ser till att cellen uppreglerar både glukotransportörer i membranet samt glykolytiska enzymer i cytosolen → ökad glykolys. Den ökade glykolysen leder i sin tur till en ökad mängd glykolytiska intermediärer, vilka används för syntes av olika makromolekyler. Även enzymet pyruvatkinas, vilket katalyserar den sista reaktionen i glykolysen, kommer att inhiberas av tyrosinkinasreceptorer. Detta leder till en ökad bildning av glykolytiska uppströmsintermediärer, vilka är väsentliga vid syntes av DNA, RNA och protein.



ÄRFTLIG KOLONCANCER

HETEROGENITET HOS TUMÖRER

Fenotypiska och funktionella heterogeniteter (olikheter) kan uppstå mellan tumörceller i samma tumör. Detta är en konsekvens av genetiska mutationer och miljöförändringar. Heterogeniteten beskriver på så vis skillnaden mellan samma cancertyp, i olika patienter, samt mellan cellerna i samma tumör. De genetiska och epigenetiska skillnaderna i tumörcellerna är ofta förklaringen till varför dem svarar olika på behandling → vissa tumörceller överlever en viss typ av behandling.

MAKROSKOPISK UNDERSÖKNING

Vid en makroskopisk undersökning studeras ett utskuret preparat i "verklig" storlek. Undersökningen går ut på att kolla efter avvikande tillväxt, vilket i kolon vanligtvis kan röra sig om bland annat **polyper** (makroskopisk beskrivning för liten knöl i slemhinnan). Av en **makroskopisk undersökning** kan en hel del information fås fram...

- Finns det någon patologisk förändring som tumör eller ulceration (sårbildning)?
 - Om ja, hur stor är den och hur ser den ut?
- Misstänker vi att förändringen är malign?
 - Om ja, vad har den för invasionsdjup?
 - Radikalitet (risk att tumörceller finns kvar i kroppen)?
 - Tecken på metastas (ex. i lymfkörtlar)?
- Övriga fynd eller förändringar, som polyper eller blödningar?

... men trots det, krävs i många fall en **mikroskopisk undersökning** för att besluta om tillväxten är:

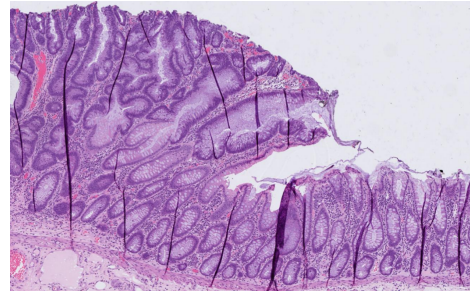
- Malign eller benign?
- Vad det är för tumörtyp och tumörgrad?
- Primärtumör eller metastas
- Speciella tumöregenskaper
- Säkerhet kring radikalitet

OBS! Ofta görs en multidisciplinär konferens (MDK) där alla professioner som är inblandade i vården av en viss patient samlas och diskuterar utredning samt behandlingsplan, vilket grundar sig på den mikro- och makroskopiska undersökningen. Tillsammans kallas den för patologisk anatomisk diagnos (PAD).

MIKROSKOPISK UNDERSÖKNING

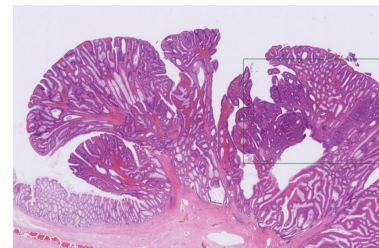
FÖRÄNDRING NR. 1

Den makroskopiska undersökningen konstaterade en polyp, som i bilden till höger studeras mikroskopiskt. I kanterna på bilden syns en vanlig slemhinna, men i mitten ses istället en svampformad upphöjning. Förtjockad mucosa, mindre slemproduktion (färre gobletceller), större och mörkare kärnor samt förgrenade körtlar bedöms som ett **tubulärt adenom (benign) med låggradig dysplasi**.



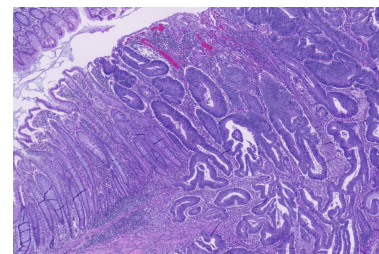
FÖRÄNDRING NR. 2

Även denna makroskopiska undersökning konstaterade en polyp. Mikroskopiskt sett syns, likt i ovannämnda polyp, färre gobletceller samt den karakteristiska svampformen. Slemhinnan ses dock som mer förändrad i detta preparat. Mer omtalade förändringar i både lamina propria och körtlarna, där körtlarna i detta preparat förgrenat sig ännu mer. Diagnosen blir ett **tubulovillöst adenom med höggradig dysplasi**. Eftersom dysplasin är höggradig innebär det att denna atypiska tillväxt är värre än "förändring nr. 1".



FÖRÄNDRING NR. 3

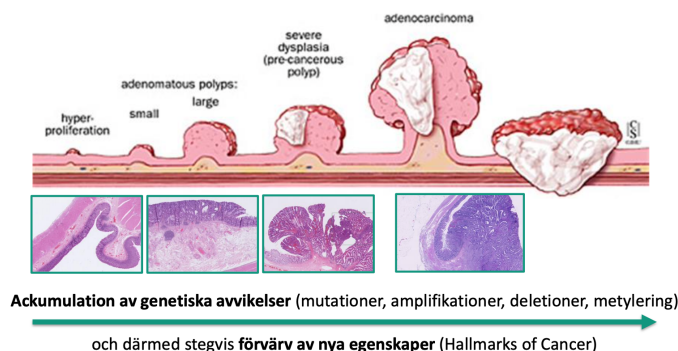
Den makroskopiska undersökningen konstaterade en ulceration (sårbildning), vilket mikroskopiskt sett inte har den karakteristiska svampformen → inte en polyp. Körtlarna syns inte att de någonsin tillhört kolon och andra tydliga dysplastiska förändringar som går att urskilja är hur körtlarna växt igenom muscularis mucosae ner i submucosan. Upptäckten bedöms som ett **adenocarcinom**.



CARCINOGENES AV KOLOREKTALA ADENOCARCINOM

Utvecklingen av adenocarcinom sker morfologiskt ofta på samma sätt: **Tillväxt → Låggradig dysplasi → Höggradig dysplasi → Adenocarcinom**

För att ett adenocarcinom dock ska kunna utvecklas enligt de ovan nämnda stegen krävs även en ackumulation av genetiska avvikelser, exempelvis mutationer och metyleringar, som stegvis förvärvar nya egenskaper hos cellerna (Hallmarks of Cancer). Dessa genetiska avvikelser följer vanligtvis en av tre olika vägar.



- Mikrosatellitinstabilitets-vägen (MSI)
- CpG island hypermethylation pathway (CIMP)
- Kromosomal instabilitets-vägen (CIN)

LYNCH SYNDROM

Lynch syndrom, som förut kallades HNPCC, är ett genetiskt syndrom som ger en kraftigt förhöjd livstidsrisk för cancer. Syndromet har en autosomal-dominant nedärvning, vilket innebär att de drabbade bär en muterad allel (genkopie) och en fungerande allel i alla sina kroppsliga celler. På grund av nedärvningsmönstret är risken att barn drabbas av Lynch syndrom 50%, ifall de har en förälder som bär på sjukdomen. I Sverige anses sjukdomen orsaka 2-4% av alla kolorektala carcinom.

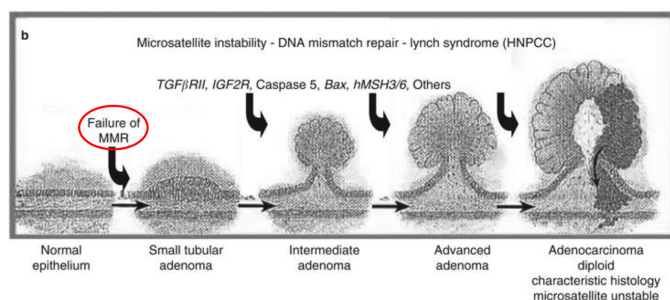
OBS! Mutationen i sig är autosomalt recessiv, men nedärvningsmönstret blir dominant då risken att drabbas någon gång under livet i princip är 100%.

Patienter med Lynch syndrom uppvisar en mutation i en av fyra DNA-reparationsgener (caretakers). Dessa gener kodar för proteiner som reparerar defekta basparningar vid DNA-replikationen under celledelning, genom en reparationsmekanism som kallas för **Mismatch Repair (MMR)**. Celler med defekt MMR tenderar att ackumulera fler och fler genetiska avvikelser på grund av felaktig reparation vid DNA-replikationen. Dessa avvikelser bildar karakteristiska mönster i vårt DNA, vilka lätt kan studeras i våra repetitiva DNA-sekvenser (t.ex. CACACACACA). Dessa repetitiva sekvenser kallas för **mikrosatelliter** och det karakteristiska mönstret som ses i samband med Lynch syndrom kallas för **mikrosatellitinstabilitet (MSI)**. Eftersom dessa DNA-sekvenser just är repetitiva, går det lätt att urskilja om ett flertal mutationer har skett i mikrosatelliterna → ett bra sätt för att kunna identifiera MSI. Mutationerna i sig i mikrosatelliterna har ingen påverkan, då dessa sekvenser inte tillhör någon specifik gen utan istället finns belägna mellan gener.

- De fyra generna i fråga heter: PMS2, MSH2, MSH1, MSH6

CARCINOGENES VID LYNCH SYNDROM (VIA MIKROSATELLITINSTABILITETS-VÄGEN)

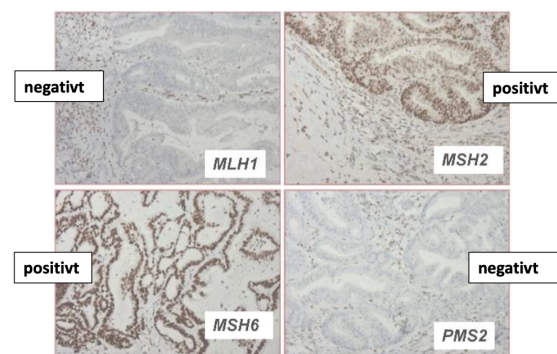
Carcinogenesen inleds vid bortfall av en MMR-funktion, vilket beror på att den fungerande allelen nu också blivit muterad (mutation i den andra allelen redan vid födseln). Detta leder till att DNA-reparationen inte kommer fungera lika bra, vilket i sin tur kommer leda till att fler mutationer ackumuleras → hög risk att en driver-gen muteras.



DIAGNOSTICERING AV LYNCH SYNDROM

Vid misstanke om Lynch syndrom kan två olika histologiska undersökningar göras:

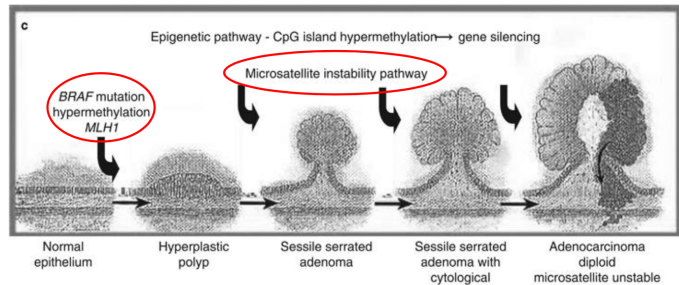
- **Immunohistokemiska färgningar** undersöker proteinuttryck av de fyra MMR-proteiner inom tumören. Olika typer av färg tillsätts som komplexbinder till de olika MMR-proteinerna, vilket genom mikroskopisk undersökning sedan kan utesluta eller indikera syndromet.



- **DNA-analys** med avseende på mikrosatellitinstabilitet, vilket i så fall är ett tecken på bristande Mismatch Repair.

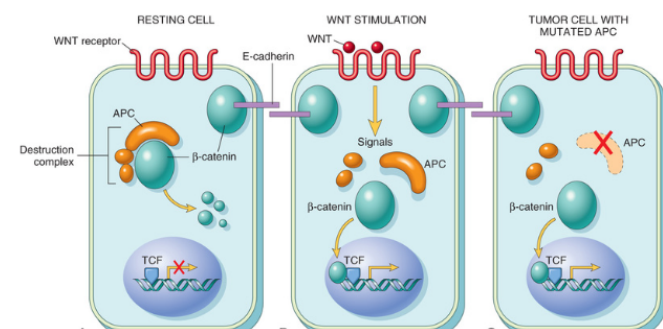
CARCINOGENES VIA CpG ISLAND HYPERMETHYLATION PATHWAY

Denna väg leder till tillfällig koloncancer, vilket innebär att det drabbar patienter som **inte har någon ärftlighet** för koloncancer. Hypermetylering av CpG-regioner inom promotorregionen leder till nedstängning av MLH1-genen (måste ske på båda alleler) → mikrosatellitinstabilitet på grund av defekt MMR. På detta sätt blir konsekvenserna precis de samma som vid Lynch syndrom, men en sak som skiljer de båda åt är att carcinogenes via denna väg ofta finns en **mutation i BRAF**. Detta är ett tydligt och viktigt tecken på att det inte rör sig om Lynch syndrom, och således inte heller är ärftligt.



CARCINOGENES VIA KROMOSOMAL INSTABILITETSVÄGEN

Denna väg leder också till **tillfällig** koloncancer och karakteriseras av **APC-mutationer och kromosomal instabilitet**, vilket exempelvis innefattar bortfall och duplikationer av kromosomdelar. Denna väg har alltså INGEN MMR eller mikrosatelliter att göra. Carcinogenes inleds vanligtvis av att en LOF-mutation uppstår i tumörsuppressorgen APC (adenomatosis polyposis coli), vilket kodar för APC-proteinet som är involverad i celladhesion (kontrollerar koncentrationerna beta-catenin och E-cadherin). Detta leder till att celler börjar släppa från varandra → ingen kontaktinhibering → börjar att proliferera, vilket till sist gör slemhinnan dysplastisk. Vid APC-mutationer blir vävnaden snabbt fylld av flertalet polyper.



MUTATIONER I APC-GENEN

Mutationer av dessa slag kan både uppstå tillfälligt, genom kromosomal instabilitetsvägen, eller genom en genetiskt spridd **familjär adenomatös polypos (FAP)**. Denna sjukdom är **ärftlig** och beror på en eller flera defekter i APC-genen. Sjukdomen karakteriseras av bildning av polypösa adenom i kolorektum, vilka uppkommer redan i tidig ung ålder och tilltar i antal och dysplasigrad med åren.

LABORATION p53 - GENOMETS VÄKTARE

TEORETISK BAKGRUND

Proteinet p53, även kallat genomets väktare, spelar en central roll för att framkalla cellulära svar på en mängd olika stressfaktorer. Till dessa hör bland annat DNA-skador, hypoxi samt avvikande proliferativa signaler från onkogenaktivering. Efter cellulär stress stabiliseras p53 och binder till DNA som en tetramer, vilket resulterar i

transkriptionell reglering av gener som är involverade i förmedling av viktiga cellulära processer, såsom DNA-reparation, cellcykelstopp, senescence och apoptos. Denna multifunktion som p53 har är viktig både för att undertrycka tumörbildning samt för att få cellen till ett försök att reparera en eventuell DNA-skada.

Hos möss resulterar inaktivering av bara en kopia av p53-genen i högre benägenhet att utveckla cancer tidigt i livet, och hos människor med Li-Fraumeni syndrom (individer med en ärftlig mutation i p53-genen) är sannolikheten i stort sett förutbestämd att utveckla en mängd olika tumörer.

Strålbehandling är ett behandlingsalternativ som ges till patienter med olika typer av cancer. Effekten av strålbehandlingen förmedlas genom DNA-skada, där strålningen orsakar att en eller båda DNA-strängarna bryts. De cellulära svaren på DNA-skada inkluderar **cellcykelstopp** och **apoptos**, vilket är processer som drivs av flera cellulära mediatorer. En av dessa är tumörsuppressorproteinet p53. Dock svarar inte alla patienter på strålbehandling, vilket kan bero på ett olämpligt cellulärt svar orsakat av förändringar i molekylvägarna som involveras efter DNA-skada.

EXPERIMENTELL BAKGRUND

Laborationen fokuserar på effekterna av strålning på cellcykeln och apoptos i tumörcellerna. Laborationen går ut på att undersöka två olika bröstcancercellinjer, vilka härnäst kommer att kallas för cellinje A och B. Båda A och B härrör från tumörer från postmenopausala patienter som diagnostiserats med invasiva körtelcarcinom, men vilka skiljer sig väsentligt i sina molekylära egenskaper och strålningskänslighet. För att studera rollen av p53, behandlas cellerna med MDM2-hämmare (Nutlin-3), vilket är en negativ regulator av p53, samt utsätter dem för strålning. Efter strålning jämförs de behandlade cellerna med de icke-behandlade cellerna i en del olika cellulära parametrar, såsom apoptos, proteinuttryck och cellcykelstatus. Under laborationen sekvenseras och analyseras även p53-genens mutationsstatus.

BEHANDLING

MDM2 är en negativ regulator av p53 och är ofta överuttryckt i många mänskliga tumörer. MDM2 fungerar genom att binda in p53 och på så vis märka det för proteasomal nedbrytning. Nutlin-3 inhiberar interaktionen mellan p53 och MDM2, och i denna labb behandlades cellerna med Nutlin-3 en timme innan de strålades med 10 Gy. Strålbehandling förkortas i flera fall till RT (radiotherapy).

METODER

CELLCYKELANALYS

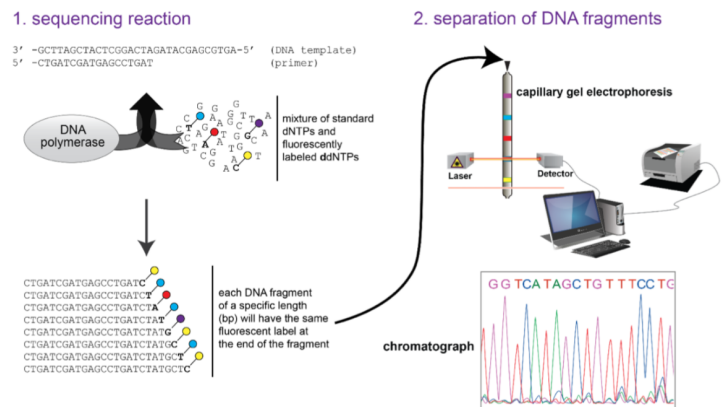
Analysen av cellcykeln utförs med en **flödescytometer** (gigantisk maskin). Innan denna analys kan äga rum färgas cellkärnorna med ämnet propidiumjodid (PI), vilket binder till DNA och avger ljus när det en efter en körs genom en laserstråle. Metoden ger information om uppdelningen av celler i G1-, S- respektive G2/M-fas, vilket beror av hur mycket DNA som finns i cellkärnorna. Jämförelser mellan behandlade prover och kontrollprover kan ge information kring cellcykelstopp samt cellproliferation i olika faser.

MUTATIONSANALYS

Kunskap om genetisk variation och förändringar i gener är av grundläggande betydelse för förståelsen av etiologin och de bakomliggande mekanismerna för sjukdom, individuell mottaglighet och variation i terapivar.

SANGERSEKVENSERING

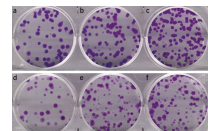
Denna metod inleds med att en konstgjord RNA-primer binder in till en DNA-strängen, vid en precis plats som lokaliseras bredvid den DNA-sekvens som vill studeras. Inledningsvis är denna metod snarlik med ett PCR-test. Inbindandet av RNA-primern möjliggör en transkription av DNA, vilket utförs av ett DNA-polymeras i 5'→3'-riktning. För att transkriptionsprodukterna inte ska bli för långa tillsätts speciella nukleotider, kallade di-deoxynukleotider (ddNTP), vilka saknar ett syre till en lösning annars bestående av vanliga nukleotider (dNTP). När DNA-polymeraset adderar en di-deoxynukleotid till sekvensen avstannar transkriptionen, då avsaknandet av syreatom förhindrar inbindning till nästkommande nukleotid → ett DNA-fragment med en specifik längd bildas (bildas enorma mängder av olika långa sekvenser). Nu återstår identifiering av hur sekvensen ser ut, vilket görs genom att ddNTP sedan tidigare infärgats med fluorokrom (fyra olika färger, en för varje bas).



Sangersekvensering resulterar i bildandet av förlängningsprodukter i varierande längder, vilka alla slutar med en ddNTP i 3'-änden. Dessa sekvenser separeras sedan med hjälp av en **kapillärelektrofores**, där de kortaste sekvenserna tar sig längre i gelen än de längre sekvenserna. Kapillärelektrofores kan separera förlängningsprodukterna i storleksordning med en bestämdhet på en bas. I slutet av kapillären finns en laser som stimulerar infärgningen att avge ett ljus med en karakteristisk våglängd, vilket detekteras av en ljussensor. En dator kan därefter översätta den detekterade signalen till en bassekvens.

COLONY FORMATION ASSAY

Colony formation assay är en **in vitro-analys** som mäter cellernas förmåga att växa till en koloni. Analysen har ofta använts för att utvärdera strålningskänslighet för olika cellinjer och för att bestämma effekterna av cytotoxiska medel på cellers kolonibildande förmåga. Förmågan att bilda kolonier har visat sig vara direkt förknippade med cancercellers potential till tumörbildning.



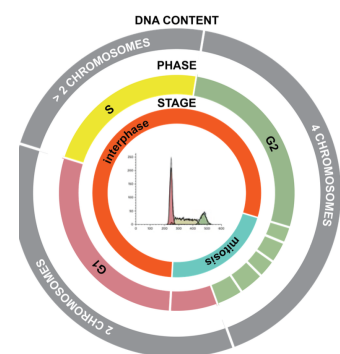
POTENTIELLA TENTAFRÅGOR

Kan du beskriva skillnaden mellan senescence och apoptos?

Senescence är ett cellulärt vilotillstånd där cellen fastnar i G0-fasen. Detta innebär att cellen fortfarande är fullt fungerande, men inte längre är kapabel att proliferera. När en cell går i apoptos induceras detta genom intrinsic eller extrinsic pathway. Cellen börjar då, genom egna proteaser kallade caspaser, att bryta ned sig själv. Apoptos kan liknas med programmerad celledöd.

Vilka olika faser består cellcykeln och mitosen av?

I stora drag delas cellcykeln in i interfas och mitos. Till interfasen hör G1-, S- och G2-fasen.

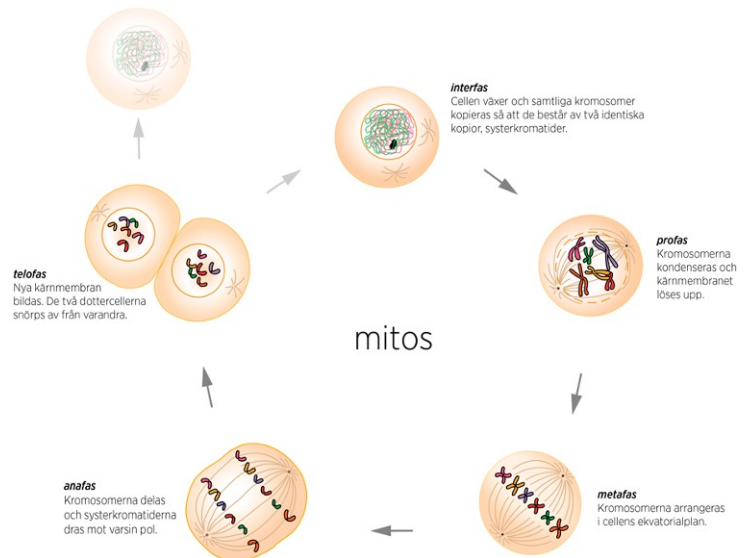


- **G0** - Vilofas där cellen antingen inte kan eller för tillfället inte ska dela sig.
- **G1** - Cellen växer i storlek och antalet organeller fördubblas.

- **S** - Replikation av arvsmassan.
- **G2** - Sista förberedelser inför mitos.

Mitosen delas in i fem faser:

1. **Profas:** Kromosomerna kondenserar och kärnmembranet löses upp.
2. **Prometafas:** Centrosomerna har nått polerna och mikrotubuli fäster vid systerkromatiderna och börjar dra dem mot ekvatorialplanet i cellen.
3. **Metafas:** Kromosomerna arrangeras i cellens ekvatorialplan.
4. **Anafasen:** Kromosomerna delas och systerkromatiderna dras mot varsin pol.
5. **Telofasen:** Nya kärnmembran bildas och de två dottercellerna snörps av från varandra.



Vad betyder enheten Gy i samband med strålning?

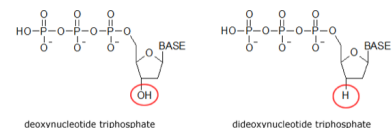
Gy står för Gray och är SI-enheten för absorberad dos. Detta innebär hur mycket joniserad strålning som absorberas (mängden strålning som träffar celler ish).

PI är en "intercalator", vad innebär det?

Intercalation är införandet av molekyler mellan DNA:ts plana baser. Denna process används främst som en metod för att analysera DNA, men är även grunden till vissa typer av förgiftning.

Vad är skillnaden mellan deoxynukleotider och di-deoxynukleotider?

En deoxynukleotid är våra molekylära byggstenar våra nukleinsyror är uppbyggda av. En di-deoxynukleotid är istället en nukleotid som saknar en hydroxylgrupp (en syreatom) på 3'-kolet.



Vad är etanolutfällning och hur får det ut DNA ur lösningen?

Etanolutfällning är en vanligt förekommande teknik för att kunna rena och koncentrera nukleinsyra (DNA eller RNA) från en vattenlösning. Etanolen gör att skiktningar bildas (då nått jäkla vänster), som sedan separeras helt genom centrifugering.

Vad är FASTA-format?

Ett textbaserat format för att representera antingen nukleotidsekvenser eller aminosyrasekvenser.

HOMEOSTAS PÅ CELL OCH VÄVNADSNIVÅ

GLUKOSHOMEOSTAS PÅ CELLNIVÅ

Glukosnivåerna i blodet regleras genom negativa feedback-mekanismer med insulin och glukagon

Mängden glukos i blodet är strikt reglerat då:

- Låga nivåer → Hjärnan får inte tillräckligt med energi
- Höga nivåer → Organ kan ta skada

ETT HÄNDELSEFÖRLOPP

I pankreas hittas langerhanska öar, vilka består av alfa- och betaceller som känner av blodglukosnivåerna. En **betacell** har glukostransportörer, som passivt transporterar in glukos i cellerna med dess koncentrationsgradient. När transporten av glukos in i cellen ökar (på grund av ökad konc. i blodet) stiger den intracellulära koncentrationen, vilket leder till att ATP-produktionen ökar (glukos är en viktig energikälla). Vid ökad ATP-produktion stängs cellmembranets K^+ -kanaler, då dessa är känsliga för ATP → cellen depolariseras (kalium har en nernst-potential på -80mV). Detta får i sin tur spänningskänsliga Ca^{2+} -kanaler att öppnas → högre koncentration av intracellulärt kalcium, vilket snabbar på exocytosen av vesiklar fyllda med insulin. Betacellerna får således en ökad utsöndring av insulin, vilket är en följd av ökad koncentration glukos i blodet. Insulinet får i sin tur kroppens celler att uppreglera glukostransportörer i deras membran → minskar glukosmängden i blodet.

Det insulinsvar som betacellerna svarar med är en självreglerande negativ feedback på de ökade glukosvärdena. Ett problem med negativa feedback-system generellt är dock att det tar tid innan dessa har effekt, då det är massvis av steg som måste ske innan (läs ovan).

Viktigt att känna till är även att insulinnivåerna fortsätter att stiga ett tag efter det att koncentrationen blodglukos börjat sjunka. Detta kommer då istället få glukosnivåerna att sjunka drastiskt, vilket skapar ett motsatt händelseförlopp mot det ovan skrivna. Kalium i cellen stiger → hyperpolarisation → minskad insulinutsöndring osv. Detta skulle teoretiskt kunna skapa dramatiska svängningar av glukosnivåerna (med höga toppar och låga dalar), men i de langerhanska öarna hittas även **alfaceller**. Dessa celler utsöndras glukagon, vilket är ett negativt feedbacksystem som går åt andra hållet → **push/pull-reglering** som förhindrar de gigantiska svängningarna i glukosnivåer.

FEED FORWARD

Det finns även en feed forward-reglering av insulinfrisättningen, vilken aktiveras då ex. chokladkakan stoppas i munnen. Nervsystemet registrerar att glukosnivåerna i kroppen inom kort kommer att stiga, vilket skapar nervsignaler som via acetylkolin uppmanar betacellerna till att börja utsöndra insulin. På detta sätt kan kroppen svara tidigare på stigande nivåer glukos.

Det är även av denna anledning som diabetiker medicineras med insulin INNAN måltid, för att förhindra de dramatiska svängningarna.

HOMEOSTAS PÅ CELLNIVÅ - ATP

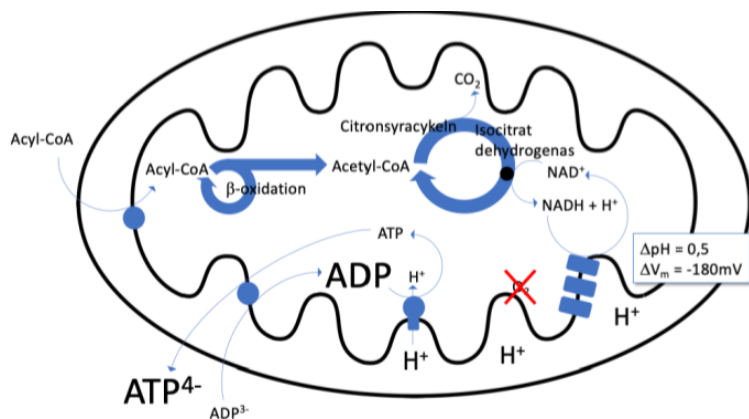
Många intracellulära reaktioner kräver energi, och av den anledningen är det viktigt att cellen ALLTID har mer ATP i förhållande till ADP. Detta gör att reaktionerna lättare kan använda sig av ATP, då detta inte är en bristvara. **Förhållandet mellan ATP och ADP ska intracellulärt vara 10:1.**

Mitokondrien sköter förbränningen av fria fettsyror i cellen. Detta görs genom att en FFA först kopplas ihop med en CoA, för att sedan transporteras in i mitokondrien via carnitin-skytteln. Väl inne i mitokondrien bryts FFA ned via beta-oxidation och bildar korta kolkedjor kallade acetyl-CoA (samma slutprodukt som från glykolysen). Acetyl-CoA går därefter in i citronsyracykeln, vars huvudsakliga uppgift är att reducera $\text{NAD}^+ \rightarrow \text{NADH}$.

I citronsyracykeln finns enzymet **isocitrat-dehydrogenas**, som är ett hastighetsbegränsande steg i citronsyracykeln. Det NADH som bildas användas genom att **NADH avlämnar en hydridjon till komplex 1**, där de direkt pumpas ut i intermembran-området.

Elektronerna transporteras mellan komplex-proteinerna i ETC, där energin från elektronerna som transporteras kommer att användas för att driva oxidationen av O_2 till

H_2O . **Denna förbränningsreaktionen är väldigt riskfylld eftersom det potentiellt kan bilda reaktiva syreradikaler.** Energin som bildas från denna vätejons-koncentrationsgradient kommer att driva omvandlingen från $\text{ADP} \rightarrow \text{ATP}$ i samarbete med ATP-syntetas. Denna reaktionen drivs även av att vi har ett 1:10-förhållande mellan ATP och ADP inuti mitokondrien.



HUR UPPSTÅR 1:10-FÖRHÅLLET MELLAN ATP OCH ADP I MITOKONDRIEN?

Förhållandet uppkommer **tack vare en antiport i mitokondriens innermembran som styrs av membranpotentialskillnaden**, som kan transportera både ATP & ADP - både ut och in genom mitokondriens innermembran. Det som möjliggör att respektive ämne kan transporteras i olika riktning är negativ membranpotentialen som skapas till följd av utpumpningen av vätejoner. **Utan denna membranpotentialskillnad = inget spegelvänt ADP-/ATP-förhållande.**

Tack vare att ATP är mer negativt laddat än ADP och eftersom att membranpotentialen är **-180 mV** (mer negativt innerst), så kommer jämvikten i transporten att förskjutas. Det leder till att större mängd av det mindre negativt laddade ADP kommer att komma in i mitokondriens matrix, medan en större mängd ATP kommer transporteras ut från matrix genom elektrisk kraft. Det är detta som bygger upp större nivåer av ADP än ATP i mitokondriens matrix.

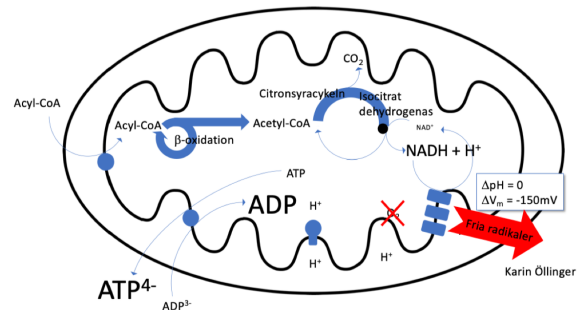
ANPASSNING VID FYSISK TRÄNING

Vid löpning börjar hjärtat att konsumera ATP i stor utsträckning, vilket leder till att ATP minskar och ADP ökar. Detta gör även att koncentrationen ADP inne i mitokondrien ökar, samtidigt som ATP minskar. Mängden ATP reglerar i normalfallet hastigheten i citronsyracykeln, genom att allosteriskt inhibera isocitratdehydrogenas. Vid minskade nivåer ATP minskar bromsen på citronsyracykeln, vilket leder till en ökad hastighet på

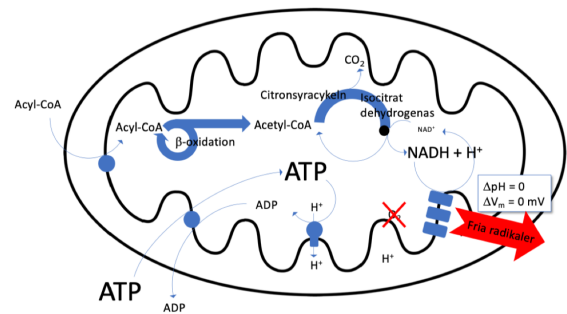
citronsyrcykel. Hastigheten på ATP-syntetaset ökar också, för att kompensera för den ökade konsumtionen i cellen.

ANPASSNING VID SJUKDOM

Vid strypt blodtillförsel får inte cellerna tillräckligt med syre, vilket gör att den sista reaktionen i ETK inte kommer kunna ske → ETK stannar av. Detta leder till att vätejonskoncentrationsgradienten och därmed pH-gradienten (det som orsakar den negativa membranpotentialen) över mitokondriens innermembran i princip kollapsar. Den elektriska gradienten och därmed membranpotentialen upprätthålls dock någorlunda... ett litet tag till.



Det som också kommer ske är att det stockar sig bakåt i kedjan. Citronsyrcykeln fortsätter producera NADH, tills dess att substratet NAD^+ tagit slut (NADH kan inte lämna ifrån sig elektronerna), vilket gör att även citronsyrcykeln till sist avstannar. Vi får då en minskad membranpotential som inte är tillräckligt för att upprätthålla 1:10 förhållandet mellan ADP och ATP. Detta leder till att joner kommer att ansamlas (pga att pumparna ej får energi som de behöver) och cellerna sväller, vilket är första tecknet på ischemi. Mer under cellsvullnad. Ytterligare ett problem som uppstår är att de energirika elektronerna som fastnat i ETK kommer vilja ta vägen någonstans, vilket gör att de så småningom börjar läcka ut från mitokondrien och då bildar **fria radikaler**.



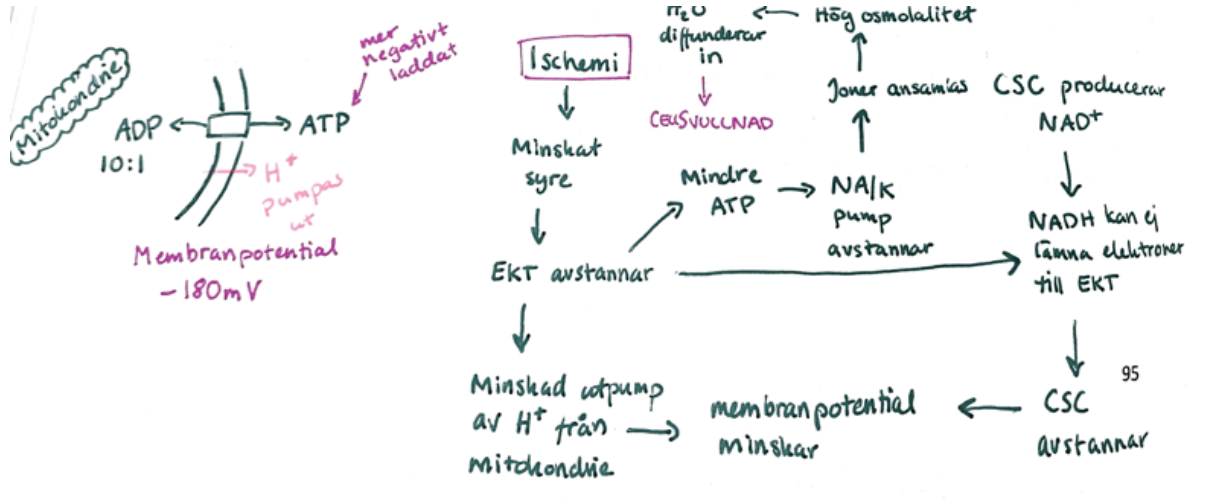
Fortgår situationen över längre tid hamnar till sist membranpotentialen över mitokondriens inre membran på 0mV, vilken beror på avsaknaden av den elektriska gradienten som utpumpningen av vätejoner annars skapar. Detta uppstår dock efter en längre tid av syrebrist. Den elektriska gradienten som utnyttjas av ATP/ADP-antiporten försvinner således, vilket gör att den inte längre kommer kunna koncentrera ADP på mitokondriens insida → jämna nivåer ADP och ATP i både mitokondrie och cytosol. Detta påverkar i sin tur ATP-syntetaset, som då kommer kunna börja producera ADP från ATP = ej livsduglig cell.

CELLSVULLNAD

Stor andel av energiåtgången i en cell går åt till att förhindra cellsvullnad. I cellerna råder en hög osmolalitet, och en hög osmolalitet leder till att vattnet kommer vilja diffundera in i cellen genom osmos → behöver motverkas!

För att motverka dessa koncentrationer i cellen så har vi natrium-/kaliumpumpen i cellen. Dessa använder ATP för att pumpa i motsatt riktning till koncentrationsgradienter och påverkar således cellens volym och osmolalitet genom att de **pumpar ut 3 natriumjoner och in 2 kaliumjoner**. Den minskar alltså antalet partiklar intracellulärt och minskar på så vis osmolaliteten i cellen, vilket förhindrar att cellen sväller upp eller lyserar. En högre andel lösta partiklar i cellen → högre osmolalitet → mer vatten i cellen → uppsvällning.

OBS! Na/K-pumpen är viktig för att cellen inte ska svälla upp, och en uppsvullen cell är ett tecken på nekros.



HOMEOSTAS PÅ VÄVNADSNIVÅ

TVÅ OLIKA TYPER AV HYPERTROFI

Fysiologisk hypertrofi (reversibel)

Uppstår som följd av bland annat intensiv aerob träning. Personer som tränar hårt och regelbundet kräver ett starkt hjärta och får därför en frisättning av GH, vilket leder till en frisättning av IGF1. Detta leder till att muskelcellerna i hjärtat genomgår hypertrofi → blir större och får fler kontraktile element. Skulle dock personen i fråga sluta träna återgår hjärtat till dess ursprungliga storlek.

Samma sker hos gravida kvinnor, då deras placenta producerar placenta growth hormone (PGH), vilket även det stimulerar till frisättning av IGF1. Detta beror på att placenta under graviditeten behöver mycket blod, vilket likt den intensiva träningen också kräver ett starkt hjärta. Efter graviditeten minskar dock nivåerna av PGH → hjärtat minskar i storlek.

Patologisk hypertrofi (irreversibel)

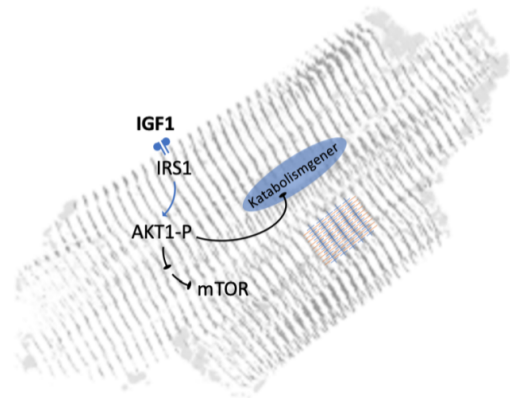
Kan orsakas av hjärtsvikt

OBS! Hypertrofi av hjärtmuskulaturen är INTE patologiskt.

FYSIOLOGISK HYPERTROFI - SIGNALVÄG

Vid stigande nivåer av IGF1 kommer en större mängd kunna binda in till IRS1-receptorn som kan aktiveras och fosforilera AKT1, som är en faktor med flera funktioner.

(1) Den kan motverka proteinnedbrytning i myokardcellerna (katabolismgener) och (2) den kommer hämma den hämmande faktorn till mTOR → mTOR aktiveras (ger ökad transkription och translation).



I Z-bandet finns cytoskelett som känner av belastningen vid fysisk ansträngning som skickar direkta signaler till genreglering för att stimulera uppbyggnadssignaler/motverka katabola signaler (på föreläsningsskildern har han satt in ett frågetecken kring hur exakt denna signalering går till)

Effekterna av IGF1 blir således en minskad proteinnedbrytning samtidigt som en ökad produktion av kontraktile element → myokardcellerna ökar i storlek. Fler kontraktile element gör även hjärtat starkare, vilket är just den effekt vi vill åt. Oavsett om vi tränar hårt eller har ett barn i magen.

PATOLOGISK HYPERTROFI - SIGNALVÄG

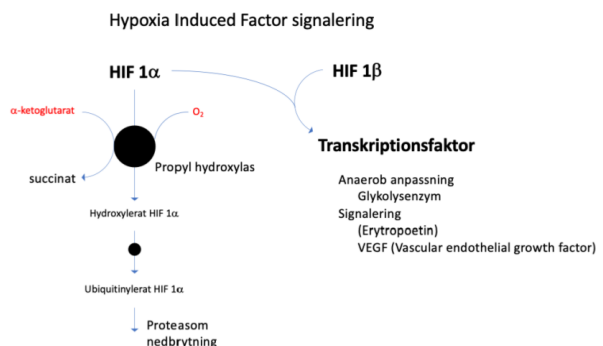
Vid patologisk hypertrofi, exempelvis vid hjärtsvikt, aktiveras G-protein kopplade receptorer av andra ämnen än IGF1, vilket kan vara av adrenalin, noradrenalin, Ang II eller endotelin. Denna aktivering leder till en hypertrofi som blir irreversibel, då tillväxtstimuleringen blir oproportionerlig → ett tillstånd av **hypoxi** för de innersta hjärtmuskelcellerna. Detta leder till att hjärtat, inte så konstigt nog, börjar fungera sämre. Hypoxin beror på blodtillförseln i hjärtat är speciell då den enbart förses genom små koronarkärl från "utsidan" och därmed inte kan förse en tjockare muskulatur.

Om vi får syrebrist i en mitokondrie så kommer dess ETK börja fungera sämre. Detta kommer återspeglas genom att vi får en liten minskning av substrat (NAD^+) för isocitratdehydrogenas, vilket leder till en minskning av även **alfa-ketoglutarat**. En minskning av alfa-ketoglutarat signalerar i celler att det finns en lite brist på syrgas, vilket den gör genom signalvägen HIF.

HYPOXIA INDUCED FACTOR - SIGNALVÄG

Vid normala förhållanden finns ständigt en produktion av **HIF-1-alfa**. Vid tillgång på syrgas (och alfa-ketoglutarat) kommer HIF-1-alfa kunna omvandlas till hydroxylerat HIF-1-alfa, vilket direkt märks av ubiquitin → bryts ned av proteasomen.

Vid sänkta syrgasnivåer (exempelvis i det hypertrofierat hjärta) kommer HIF-1-alfa, i motsats till ovan, inte kunna göras om och brytas ned. Detta gör att HIF-1-alfa reagerar med HIF-1-beta och bildar ett komplex som fungerar som en **transkriptionsfaktor**. Denna TFs funktion är att få cellen att anpassa sig efter mer anaeroba förhållande, vilket gör att cellen successivt börjar övergå till en anaerob glykolys.



HIF-komplexet uppgift är bland annat:

- Öka transkriptionen av tillväxtfaktorer, såsom VEGF → kärltillväxt och angiogenes.
- Öka produktionen av erythropoietin → ökad erytropoes
- Anaerob anpassning → ökad transkription av glykolysenzym, vilket får den generella metabolismen att övergå från fettsyror till glukos. Detta är en viktig anpassning för vävnaden, då den genom detta kan bilda ATP trots frånvaro av syre genom anaerob glukosmetabolism, samtidigt som cellen inte behöver genomgå oxidativ fosforylering lika ofta.